

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANIEL GRANATO

**EMULSÃO DE SOJA E GOIABA: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,
CROMÁTICA, SENSORIAL E DE ESTABILIDADE**

CURITIBA
2009

DANIEL GRANATO

**EMULSÃO DE SOJA E GOIABA: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,
CROMÁTICA, SENSORIAL E DE ESTABILIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr^a Maria Lucia Masson

CURITIBA
2009

DANIEL GRANATO

**EMULSÃO DE GOIABA E SOJA: CARCATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,
CROMÁTICA, SENSORIAL E DE ESTABILIDADE**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientadora: Prof. Dra. Maria Lucia Masson
Setor de Tecnologia, UFPR

Prof. Dra. Luciana de Souza Neves Ellendersen
Setor de Ciências Agrárias, UEPG

Prof. Dra. Agnes de Paula Scheer
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 02 de fevereiro de 2009.

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Maria Aparecida Granato, por ser a inspiração em minha vida e grande exemplo de perseverança, luta e dignidade.

Ao meu pai, Marcos Granato, a pessoa mais paciente, benevolente, pura e honesta que convivo.

Amo muito vocês e esta pesquisa é resultado de tudo o que vocês me ofereceram.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me fazer forte e me mostrar sempre o melhor caminho, a verdade e a luz.

À minha mãe querida que sempre me incentivou a continuar a estudar, por acreditar em meus sonhos, em me apoiar em todas as decisões, por me ajudar em TUDO o que eu pedi e, principalmente, por me amar incondicionalmente.

Ao meu pai por me tolerar quando eu estava nervoso e impaciente ou quando precisava me concentrar para fazer os trabalhos, os artigos.

Aos laboratoristas do CEPPA, em especial à Caroline, Emiliana e Jaqueline por me ensinarem tanta coisa que usei nos meus trabalhos.

À minha orientadora Dra. Maria Lucia Masson por tantas sugestões valiosas, por aturar minha ansiedade, e-mails longos e, principalmente, por dar suporte e ânimo quando eu mais precisei.

À Dra. Luciana Neves Ellendersen por ter corrigido tantas vezes meu trabalho e pela paciência.

À Dra. Nina Waszczynskyj por me fazer enxergar a análise sensorial de uma maneira mais prática e por suas sugestões valiosas na qualificação.

Ao Dr. Renato João Sossela de Freitas por tantas vezes que me ajudou na elaboração e correção dos meus artigos e trabalhos de congressos. Sem isso, certamente não teria aprendido o quanto eu precisava.

À Dra. Inar Alves de Castro que me hospedou em sua casa mesmo sem me conhecer, apostou em mim e me ensinou toda a parte estatística que usei nesta pesquisa. Realmente foi essencial para mim!!

A todos os amigos e colegas que contribuíram de alguma forma na realização desse trabalho, especialmente à Flávia Vilas Boas Wiecheteck Piekarski, Marcelo Giordani Minozzo e Cristina Benincá por me apoiarem e confortarem durante o período de mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos pela oportunidade; e à CAPES pela bolsa de estudos.

Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis.

Bertolt Brecht

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	3
CAPÍTULO 1	REVISÃO DE LITERATURA	4
RESUMO	5
ABSTRACT	6
1.1	ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	7
1.2	FIBRAS ALIMENTARES.....	8
1.3	EFEITOS DA FIBRA ALIMENTAR AO LONGO DO TRATO GASTRINTESTINAL.....	9
1.4	PREBIÓTICOS.....	10
1.4.1	Efeitos fisiológicos do consumo frequente de prebióticos.....	11
1.4.2	Frutooligosacarídeos.....	13
1.5	INTOLERÂNCIA À LACTOSE.....	14
1.6	PRODUTOS FUNCIONAIS SEM BASE LÁCTEA.....	16
1.7	SOJA E SEU EXTRATO HIDROSSOLÚVEL.....	17
1.8	GOIABA.....	19
1.8.1	Suco de goiaba.....	21
1.9	CAROTENÓIDES.....	22
1.9.1	Licopeno.....	23
1.10	EMULSÕES ALIMENTÍCIAS.....	25
1.10.1	Estabilidade da emulsão.....	26
1.10.2	Emulsificantes/estabilizantes.....	28
1.11	ALIMENTOS ADICIONADOS DE MINERAIS ESSENCIAIS.....	29
1.11.1	Ferro.....	30
1.12	ANÁLISE SENSORIAL.....	33
1.12.1	Análise sensorial de produtos funcionais.....	34
1.13	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
CAPÍTULO 2	DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO DE GOIABA E SOJA: PROCESSAMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E CROMÁTICA	37
RESUMO	38
ABSTRACT	39
2.1	INTRODUÇÃO.....	40
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	43
2.2.1	Material.....	43
2.2.2	Delineamento experimental.....	43
2.2.3	Preparo das amostras.....	44
2.2.4	Análises físico-químicas.....	46
2.2.4.1	Determinação de acidez titulável.....	46
2.2.4.2	Determinação de pH.....	46
2.2.4.3	Quantificação de minerais.....	47
2.2.4.4	Quantificação de carotenóides totais.....	48
2.2.4.5	Avaliação cromática.....	48
2.2.4.6	Atividade de água (Aw).....	50
2.2.4.7	Fibras e ácido ascórbico.....	50
2.2.5	Análises estatísticas.....	50
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
2.3.1	Parâmetros físico-químicos.....	52
2.3.2	Cor instrumental.....	58
2.3.3	Modelos matemáticos.....	61
2.3.4	Otimização físico-química e colorimétrica.....	63
2.3.5	Caracterização da amostra otimizada.....	65
2.4	CONCLUSÕES.....	67
CAPÍTULO 3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E SENSORIAL DE EMULSÃO DE GOIABA PARA INTOLERANTES À LACTOSE	68
RESUMO	69
ABSTRACT	70
3.1	INTRODUÇÃO.....	71

3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	75
3.2.1	Material e delineamento experimental.....	75
3.2.2	Produção das emulsões.....	76
3.2.3	Avaliação microbiológica.....	76
3.2.3.1	Determinação de coliformes.....	77
3.2.3.2	Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	77
3.2.3.3	Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	77
3.2.3.4	Pesquisa por <i>Salmonella</i> sp.	78
3.2.3.5	Bolores e leveduras.....	78
3.2.4	Avaliação sensorial.....	78
3.2.5	Estabilidade física.....	80
3.2.6	Análises estatísticas.....	80
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82
3.3.1	Avaliação microbiológica.....	82
3.3.2	Estabilidade física.....	82
3.3.3	Atributos sensoriais.....	84
3.3.4	Índice de aceitação.....	88
3.3.5	Ordenação de preferência.....	90
3.4	CONCLUSÕES.....	95
CAPÍTULO 4	VIABILIDADE DE UMA EMULSÃO DE GOIABA E SOJA SOB	
	ARMAZENAMENTO REFRIGERADO POR 60 DIAS.....	98
RESUMO	99
ABSTRACT	100
4.1	INTRODUÇÃO.....	101
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	104
4.2.1	Elaboração das amostras.....	104
4.2.2	Análise sensorial inicial.....	104
4.2.2.1	Teste triangular.....	104
4.2.2.2	Teste afetivo de aceitação de atributos.....	105
4.2.3	Caracterização da amostra representativa.....	105
4.2.4	Estabilidade físico-química.....	106
4.2.5	Estabilidade física.....	106
4.2.6	Análise cromática.....	106
4.2.7	Desenvolvimento de modelos cinéticos.....	107
4.2.8	Estabilidade microbiológica.....	107
4.2.9	Análise sensorial.....	108
4.2.10	Análise estatística.....	108
4.2.11	Estimativa da vida de prateleira.....	109
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	110
4.3.1	Teste triangular e afetivo: escolha da amostra representativa.....	110
4.3.2	Amostra representativa: composição centesimal e mineral.....	111
4.3.3	Armazenamento refrigerado.....	113
4.3.3.1	Estabilidade físico-química.....	113
4.3.3.2	Estabilidade física.....	117
4.3.3.3	Estabilidade cromática.....	118
4.3.3.4	Alteração de cor e do teor de vitamina C.....	122
4.3.3.5	Estabilidade microbiológica.....	126
4.3.3.6	Atributos sensoriais.....	127
4.3.3.7	Estimativa de vida de prateleira.....	131
4.4	CONCLUSÕES.....	133
CONCLUSÕES FINAIS	134
SUGESTÕES	135
REFERÊNCIAS	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Prevalência de deficiência na produção de lactase, em porcentagem da população adulta..	14
Tabela 1.2	Valor diário recomendado de ingestão (VDR) de referência de ferro segundo IOM e ANVISA.....	33
Tabela 2.1	Delineamento fatorial completo (3 ²) aplicado ao desenvolvimento das emulsões a base de soja e suco de goiaba vermelha.....	44
Tabela 2.2	Ingredientes e respectivas quantidades (g/100 g) empregadas para a produção das emulsões.....	46
Tabela 2.3	Condições de operação do espectrômetro de absorção atômica e do espectrofotômetro UV-VIS.....	47
Tabela 2.4	Análise físico-química das emulsões à base de soja, suco de goiaba e oligofrutose.....	52
Tabela 2.5	Cor instrumental das amostras de emulsões.....	58
Tabela 2.6	Modelos matemáticos, coeficientes de regressão, coeficientes de determinação e valores de probabilidade (p) obtidos através da análise de variância de dados experimentais.....	62
Tabela 2.7	Valores previstos e experimentais para a otimização da formulação de emulsão contendo suco de goiaba e proteína de soja.....	65
Tabela 2.8	Conteúdo mineral, de fibras dietéticas e ácido ascórbico da amostra de emulsão otimizada.....	66
Tabela 3.1	Delineamento fatorial completo (3 ²) aplicado ao desenvolvimento das emulsões à base de proteína de soja e suco de goiaba vermelha.....	75
Tabela 3.2	Escala hedônica de 7 pontos para as amostras de emulsão desenvolvidas com suco de goiaba, oligofrutose e proteína de soja.....	96
Tabela 4.1	Atributos sensoriais das amostras contendo 32% suco de goiaba e 1,17% e 2,0% de proteína de soja.....	111
Tabela 4.2	Conteúdo mineral médio (mg/100 g) da amostra contendo 32% suco de goiaba e 2% proteína de soja comparada com outras emulsões comercializadas no Brasil como sobremesa.....	112
Tabela 4.3	Parâmetros físico-químicos avaliados nos tempos 1, 20, 40 e 60 dias após processamento.....	113
Tabela 4.4	Cor instrumental da sobremesa em relação a 60 dias de armazenamento refrigerado (7 ± 1°C).....	118
Tabela 4.5	Parâmetros cinéticos e estatísticos da variação de cor e vitamina C da emulsão durante o armazenamento refrigerado.....	123
Tabela 4.6	Alteração sensorial da emulsão em 60 dias de estocagem refrigerada.....	127
Tabela 4.7	Estimativa de vida de prateleira para os atributos sensoriais selecionados da emulsão de soja e goiaba.....	132

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Estrutura química da lactose.....	15
Figura 1.2	Estrutura química dos oligossacarídeos rafinose e estaquiose presentes na soja.....	18
Figura 1.3	Estrutura química do licopeno.....	20
Figura 1.4	Estabilidade de emulsões alimentícias.....	27
Figura 2.1	Fluxograma de desenvolvimento das amostras de emulsões de goiaba e soja, com adição de ferro e oligofrutose.....	45
Figura 2.2	Representação do sistema de coordenadas CIELAB para avaliação de cor instrumental....	49
Figura 2.3	Relação entre a quantidade de proteína de soja e suco de goiaba no teor de carotenóides das emulsões.....	54
Figura 2.4	Relação entre a quantidade de proteína de soja e suco de goiaba no pH das emulsões.....	55
Figura 2.5	Relação entre a quantidade de proteína de soja e suco de goiaba na acidez titulável das emulsões.....	56
Figura 2.6	Relação entre a quantidade de proteína de soja e suco de goiaba na atividade de água das emulsões.....	57
Figura 2.7	Relação entre a quantidade de proteína de soja e suco de goiaba na luminosidade das emulsões.....	59
Figura 2.8	Relação entre a quantidade de proteína de soja e suco de goiaba na coordenada a^* das amostras.....	60
Figura 2.9	Relação entre a quantidade de proteína de soja e suco de goiaba na tonalidade de cor das amostras.....	61
Figura 3.1	Algumas amostras após centrifugação a 5000 rpm por 45 minutos (A) e estabilidade após 72 horas de refrigeração a 7°C (B).....	83
Figura 3.2	Índice de aceitação das amostras de emulsão de soja e goiaba (n = 75).....	89
Figura 3.3	Somatório da primeira sessão de ordenação (n = 75). F2= 22% suco goiaba e 2% de proteína de soja; F5= 27% suco goiaba e 2% de proteína de soja; F6= 27% suco goiaba e 3% de proteína de soja; F7= 32% suco goiaba e 1% de proteína de soja.....	91
Figura 3.4	Somatório da segunda sessão de ordenação (n = 75). F1= 22% suco goiaba e 1% proteína de soja; F4= 27% suco goiaba e 1% proteína de soja; F9= 32% suco goiaba e 3% proteína de soja; F10= 27% suco goiaba e 2% proteína de soja.....	92
Figura 3.5	Somatório da terceira sessão de ordenação (n = 75). F3= 22% suco goiaba e 3% proteína de soja; F8= 32% suco goiaba e 2% proteína de soja; F11= 27% suco goiaba e 2% proteína de soja.....	93
Figura 3.6	Somatório da última sessão de ordenação (n = 75). F6= 27% suco goiaba e 3% proteína de soja; F8= 32% suco goiaba e 2% proteína de soja; F10= 27% suco goiaba e 2% proteína de soja.....	94
Figura 4.1	Valores experimentais de vitamina C em função do tempo de armazenamento refrigerado.....	114
Figura 4.2	Valores experimentais de pH em função do tempo de armazenamento refrigerado.....	115
Figura 4.3	Valores experimentais de acidez titulável em função do tempo de armazenamento refrigerado.....	117
Figura 4.4	Valores experimentais de perda de cor da coordenada a^* (a), I^* (b) e h^* (c) da emulsão em função do tempo de armazenamento refrigerado.....	120
Figura 4.5	Valores experimentais de perda da intensidade de cor da sobremesa em função do tempo de armazenamento refrigerado.....	121
Figura 4.6	Valores experimentais de perda de cor total da emulsão em função do tempo de armazenamento refrigerado.....	122
Figura 4.7	Modelo cinético de primeira ordem da variação do parâmetro de cor a^* em emulsão de soja e goiaba durante a estocagem refrigerada.....	124
Figura 4.8	Modelo cinético de primeira ordem da variação do parâmetro de cor h^* em emulsão de soja e goiaba durante a estocagem refrigerada.....	124
Figura 4.9	Modelo cinético de primeira ordem da variação do parâmetro de cor L^* em emulsão de soja e goiaba durante a estocagem refrigerada.....	125
Figura 4.10	Modelo cinético de primeira ordem da variação do parâmetro de cor b^* em emulsão de soja e goiaba durante a estocagem refrigerada.....	125
Figura 4.11	Modelo cinético de primeira ordem da variação do teor de vitamina c (aa) em emulsão de soja e goiaba durante a estocagem refrigerada.....	126
Figura 4.12	Intenção de compra de emulsão de goiaba nos 60 dias de refrigeração.....	130

RESUMO

O desenvolvimento de produtos sem lactose é uma tendência do mercado, aumentando as opções para lactose-intolerantes e, neste contexto, pesquisa de desenvolvimento de produtos com soja avalia seu potencial como fonte nutritiva e de baixo custo, na elaboração de novas formulações. Assim, proteína de soja (PS) e suco de goiaba vermelha (SG) foram utilizadas em um delineamento experimental 3^2 completo, com adição de 3 pontos centrais, com intuito de se estudar os seus efeitos sobre a atividade de água, acidez titulável, carotenóides, ferro, pH, cor instrumental, capacidade de retenção de água e estabilidade refrigerada, que foram determinados, em triplicata, através de métodos oficiais. A aceitação sensorial dos atributos de cor, cremosidade, acidez, cor, aparência, aroma e sabor também foram avaliados, além de serem ordenadas quanto à preferência. Foi observado que os valores de pH, carotenóides, cor instrumental, acidez titulável e atividade de água apresentaram diferença estatística ($p < 0,001$) entre os tratamentos. Quanto maior a quantidade de PS adicionada nas amostras, maior valor de pH, ferro e menor valor de atividade de água medidos, ao passo que o SG diminuiu significativamente o pH, aumentou a acidez titulável, teor de carotenóides e cor vermelha (ângulo h^* e coordenada a^*) das amostras. O ponto utilizado para alcançar as características físico-químicas otimizadas foi obtido misturando 32% de SG e 1,17% de PS. Somente a amostra composta por 1% PS e 27% SG não reteve 100% da água livre no sistema. A aceitação sensorial dos produtos foi correlacionada fortemente com o sabor ($r = 0,820$, $p < 0,05$), com a cremosidade ($r = 0,659$, $p < 0,05$) e a aparência ($r = 0,646$, $p < 0,05$). A emulsão elaborada com 32% SG e 2% PS foi a mais aceita pelos provadores nos atributos de sabor, aceitação e cremosidade, sendo estes parâmetros sensoriais fundamentais no tipo de produto desenvolvido, sendo considerada a amostra representativa do experimento. Esta emulsão apresentou mais de 15% do valor recomendado de ingestão diário de cobre, ferro e ácido ascórbico. O estudo de estabilidade frente ao armazenamento refrigerado dessa amostra por 60 dias evidenciou que os parâmetros sensoriais, físico-químicos e colorimétricos avaliados diferiram significativamente. A degradação de cor instrumental foi modulada satisfatoriamente em modelos cinéticos de primeira ordem com índices de determinação acima de 75%. A cremosidade e aceitação sensorial

não sofreram alteração significativa nos 60 dias avaliados, e o sabor, aroma e acidez mantiveram notas dentro da faixa de aceitabilidade. Não obstante, a amostra apresentou boa estabilidade física e conteúdo de cobre, ferro e vitamina C acima de 15% dos valores diários recomendados pela legislação brasileira. A estimativa de vida de prateleira para o produto levando em consideração a intenção de compra e aceitação global foi de 79 dias.

Palavras-chave: Viabilidade. *Psidium guajava*. *Glycine max* (L.). Aceitação sensorial. Proteína de soja.

ABSTRACT

The development of products suppressed of lactose is necessary to offer new options for the intolerants, and in this context products obtained from the soybeans can be suitable and cheap options to develop new products. Hence, soy protein (SP) and red guava juice (GJ) were used in a full factorial design 3^2 , with 3 centre points, to study their effects on water activity, titrable acidity, carotenoids, iron, instrumental color, water holding capacity and cold stability, which were measured by means of official methods. The trials were also studied sensorially, where the acceptance, creaminess, flavor, taste, acidity, color and overall appearance of the emulsions were assessed using a seven-point hedonic scale, moreover, the trials were also submitted to the preference ranking test. It was observed that pH, carotenoids, water activity, titrable acidity, instrumental color differed significantly ($p < 0.001$) among samples. Guava juice was responsible for the high measured values of red color (hue angle and a^* coordinate), carotenoids and acidity, whereas soy soluble extract increased iron content and reduced the water activity of the trials. SP was t increased the iron content and the pH values and reduced the water activity of the trials, whereas GJ was responsible for the high measured values of red color, hue angle, chromaticity, carotenoids and acidity. The point to obtain optimum physicochemical and colorimetric features was achieved by mixing 32% of guava juice and 1.17% of soy protein. This sample could be considered source of dietary fibers, ascorbic acid, magnesium, copper and iron once it presented, at least, 15% of the Brazilian recommended daily value of ingestion recognized by the current legislation. Only the sample did not hold 100% of the water in the matrix. The sensory acceptance was strongly correlated to taste ($r = 0.820$, $p < 0.05$), creaminess ($r = 0.659$, $p < 0.05$) and appearance ($r = 0.646$, $p < 0.05$). The emulsion produced with 32% of guava juice and 2% of soy was the most promising trial concerning the simultaneous achievement of high scores of taste, creaminess and acceptance. This trial presented a good profile of minerals and could be considered source of copper, iron and dietary fiber. The stability study throughout 60 days of cold storage showed that the parameters differed significantly ($p < 0.05$) from the initial time evaluated and they could be fitted in mathematical equations with coefficient of determination above 74%. Color degradation was modeled and the data were satisfactorily fitted in first-

order kinetic models, presenting coefficients of determination above 75%. Creaminess and acceptance did not differ statistically in 60 days while taste, flavor and acidity kept a suitable hedonic score during storage. Notwithstanding, the sample presented good physical stability in response to gravity and presented more than 15% of the Brazilian Daily Recommended Value of copper, iron and ascorbic acid. The estimation of shelf-life to the product was attained to be 79 days, considering overall acceptance and purchase intent.

Keywords: Viability. *Psidium guajava*. *Glycine max* (L.). Sensory acceptance. Soy protein.

INTRODUÇÃO

Historicamente o estado nutricional da população mundial, especialmente as pessoas que vivem em países desenvolvidos, é resultado do consumo excessivo de gorduras, elevada ingestão de açúcares e diminuição considerável do consumo de fibras, vitaminas e sais minerais (DE ANGELIS, 2002), sendo que tais hábitos podem ser causadores da elevada incidência de doenças crônicas não-transmissíveis (SAAD *et al.*, 2006). Com o intuito de diminuir o risco de tais doenças, observa-se um acelerado investimento no desenvolvimento de alimentos que apresentam, além de características nutricionais e tecnológicas adequadas, componentes que exercem funções fisiológicas, como manutenção do sistema hormonal, eliminação de patógenos, diminuição do colesterol sérico e do risco de doenças cardiovasculares, entre outras (ROBERFROID, 2002).

Os consumidores estão cada vez mais atentos à relação alimento/saúde em consequência de propagandas comerciais de produtos alimentícios com propriedades benéficas à saúde, ou seja, dos alimentos funcionais. Dentre estes, a soja (BARBOSA, 2007) e os prebióticos (CARDARELLI *et al.*, 2008) têm sido investigados nos últimos anos por apresentarem estudos multidimensionais para usos tecnológicos e industriais.

Nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration*, FDA, recomendou o consumo diário de 25 gramas de proteínas de soja como medida preventiva para problemas cardíacos. Com isso, as vendas de alimentos à base de soja quadruplicaram em 2003, movimentando US\$ 3,7 bilhões naquele país. No Brasil, o setor de produtos à base de oleaginosa movimenta mais de R\$ 300 milhões por ano, sendo que em 2002, o mercado foi de 87 milhões de litros de 'leites de soja' e sucos mistos com o extrato hidrossolúvel (KASSAI, 2003).

Prebióticos são definidos como substâncias não-hidrolisáveis no trato gastrointestinal superior que promovem o crescimento preferencial de bactérias intestinais, particularmente as bifidobactérias e os lactobacilos (MARTEAU; SEKSIK, 2004). São classificados, do ponto de vista nutricional, como fibras dietéticas e são constituídos de carboidratos com reduzida absorção no sistema digestório, como a inulina e oligofrutose (SCHREZENMEIR; DE VRESE, 2001). O consumo de fibras prebióticas deve ser incentivado uma vez que são promotoras da microbiota intestinal benéfica, aumentando a absorção de cálcio e ferro (CASHMAN, 2002),

além de serem empregadas na profilaxia e tratamento de uma série de condições patológicas como a constipação intestinal, doença inflamatória intestinal, pouchite, doença de Chron e retocolite ulcerativa inespecífica (SARTOR, 2004)

Poucas emulsões alimentícias vendidas como sobremesas são destituídas de lactose. O desenvolvimento de produtos sem lactose atende ao mercado com novas opções de consumo para os intolerantes à lactose. A prevalência de deficiência de lactase em adultos na população mundial chega a 75%, enquanto que no Brasil esse número alcança 28%, nos países hispânicos e asiáticos esse número varia de 60 a 80% (CASTIGLIONE *et al.*, 2008). Fica evidente a necessidade de desenvolver novos produtos para tais consumidores e o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) é uma opção saudável e barata em relação ao leite bovino, contendo adequado perfil de minerais, vitaminas lipossolúveis e proteína de alto valor biológico (USDA, 2003).

Com a intenção de diversificar os produtos prebióticos e os da agroindústria de soja, pesquisas no sentido de associar a funcionalidade do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) às características prebióticas dos frutooligossacarídeos parecem promissoras, principalmente no desenvolvimento de emulsões funcionais, com textura, sabor e aroma apropriados e que sejam aceitas pelos consumidores atuais. Assim, o objetivo desta pesquisa foi desenvolver uma emulsão à base de soja e suco de goiaba, com adição de oligofrutose e ferro, no intuito de oferecer uma nova opção nutritiva e saborosa para os intolerantes à lactose, vegetarianos ou quem seja adepto de uma alimentação saudável.

No capítulo 1 os tópicos que relacionam os benefícios da ingestão de carotenóides, minerais essenciais como o ferro, fibras alimentares com propriedades prebióticas, proteína e o extrato de soja são abordados para introdução dos temas estudados na pesquisa. A seguir, no capítulo 2, são apresentados os dados físico-químicos e a otimização realizada das formulações de emulsão. No capítulo 3 são evidenciados o potencial sensorial e de estabilidade das emulsões contendo soja e suco de goiaba, elucidando sua qualidade e gerando informações úteis para novas pesquisas e para as indústrias. Já o capítulo 4 é dedicado para a caracterização físico-química e de estabilidade frente ao armazenamento refrigerado controlado da emulsão com os melhores aspectos sensoriais

Objetivos

Objetivo geral

Avaliar o emprego de concentrações de proteína de soja e suco de goiaba nas características físico-químicas, colorimétricas, sensoriais e de estabilidade de emulsões adicionadas de oligofrutose e ferro.

Objetivos específicos

Caracterizar os parâmetros cromáticos e físico-químicos das emulsões: pH, acidez titulável, carotenóides totais, ferro e atividade de água;

Determinar a formulação com características físico-químicas otimizadas através de métodos estatísticos;

Verificar a estabilidade das emulsões frente à capacidade de retenção de água e frente ao armazenamento refrigerado a 7°C;

Caracterizar as amostras microbiologicamente;

Analisar sensorialmente as formulações pelo teste de ordenação de preferência e aceitação de atributos;

Comparar os atributos sensoriais da amostra selecionada por testes sensoriais com a amostra otimizada físico-quimicamente;

Determinar a composição básica e composição mineral da formulação escolhida;

Realizar o estudo de vida de prateleira da formulação armazenada sob refrigeração a 7°C, por 60 dias.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

RESUMO

Os consumidores estão cada vez mais atentos à relação alimento/saúde em consequência do *marketing* e de uma maior conscientização sobre os produtos alimentícios com propriedades benéficas à saúde, ou seja, os alimentos funcionais. A soja e os prebióticos destacam-se entre os alimentos cujas alegações de saúde têm sido investigados nos últimos anos e que apresentam estudos multidimensionais para usos tecnológicos e industriais. Não obstante, como a prevalência de intolerância à lactose é alta nas populações de diversos países, a valorização o desenvolvimento de alimentos sem base láctea é uma necessidade não apenas aos intolerantes, mas também para os vegetarianos. Neste capítulo serão apresentados temas, tendências e conceitos que são base para a compreensão do desenvolvimento desta dissertação tais como: a importância do consumo habitual das fibras alimentares na dieta convencional, especialmente as que possuem efeito prebiótico; o papel dos carotenóides nas funções antioxidantes no organismo humano; o papel da proteína de soja tanto para o consumo quanto para a promoção da estabilidade de emulsões alimentícias; o desenvolvimento de produtos contendo soja, fibras e minerais essenciais como o ferro; emulsões alimentícias e sua estabilidade após homogeneização; metodologias de análise sensorial empregadas para a avaliação de emulsões e as pesquisas realizadas na parte de tecnologia de alimentos funcionais.

Palavras-chave: Frutooligossacarídeos. Análise sensorial. Desenvolvimento de produtos. Emulsão. *Glycine max* (L.).

ABSTRACT

Consumers are more aware about the relation between health and food in consequence of the marketing of food products with health benefic properties: the functional foods. The soybeans and the prebiotics stand out among the foods whose health claims have been investigated in recent years and also to present multidimensional studies to technological use. Notwithstanding, as the lactose-intolerance prevalence is high in many worldwide countries, the development of lactose-free products is necessary not only for the intolerants but also for the vegetarians. In this chapter some themes will be presented to understand the reasons of this research such as: importance of the chronic intake of dietary fibers in the regular diet, especially the ones with prebiotic effects; the role of carotenoids in antioxidants functions in humans; the role of soy protein for consumption and for promoting the physical stability of food emulsions; the development of products containing soy, fibers, minerals such as iron; emulsions e their stability after homogenization; methodologies used in sensory analysis in order to evaluate the emulsions; and researches regarding the functional food technology.

Keywords: Fructooligosaccharides. Sensory analysis. Food design. Emulsion. *Glycine max* (L.).

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Com o aumento da expectativa de vida da população e dos custos médico-hospitalares, há necessidade do desenvolvimento científico de novas tecnologias que resultem em modificações importantes no estilo de vida das pessoas, entre os quais se destaca a nutrição otimizada, um conceito dirigido no sentido de maximizar as funções fisiológicas de cada indivíduo, de maneira a assegurar tanto o bem-estar quanto a saúde (ROBERFROID, 2002). Esta tendência tem levado a indústria alimentícia ao desenvolvimento de novos produtos cujas funções pretendem ir além do fornecimento de nutrientes básicos e da satisfação do paladar do consumidor: os alimentos funcionais, entre os quais podem ser citados os probióticos, prebióticos e simbióticos (KOTILAINEN *et al.*, 2006).

O termo *alimento funcional* foi definido inicialmente no Japão, em meados da década de 1980, como *Foods For Specific Health Use* e pode ser definido como qualquer alimento que possa oferecer um benefício à saúde além da função básica inerente a ele (FDA, 2004) ou que contenha um componente, seja um nutriente ou não, que beneficia uma ou algumas funções no organismo para o bem estar e saúde, ou para redução do risco de uma enfermidade (AZORÍN-ORTUÑO *et al.*, 2009).

Esses alimentos possuem potencial para promover a saúde através de mecanismos não previstos através da nutrição convencional, devendo ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (SIEGRIST; STAMPFLI; KASTENHOLZ, 2008). Incluem-se nesta definição produtos com teores reduzidos de açúcar, gordura ou sal, fortificados com vitaminas, minerais. Pode ser, também, um componente que apesar de algum valor nutritivo não é essencial (como oligossacarídeos) ou mesmo sem nenhum valor nutritivo como metabólitos secundários de plantas e microorganismos, peptídeos bioativos ou ácidos graxos insaturados (SIRÓ *et al.*, 2008).

Segundo Roberfroid (2000), um produto alimentício com propriedades funcionais pode ser desenvolvido eliminando-se um componente conhecido por causar ou por ser identificado como causador de efeitos deteriorantes quando consumido, como por exemplo, proteína alergênica; aumentando-se a concentração

de um composto naturalmente presente no alimento até um ponto que inclua efeitos induzidos previstos, ou aumentando a concentração de um componente não-nutritivo até um nível conhecido a trazer um efeito benéfico. Ou ainda adicionando-se um composto que não esteja normalmente presente na maioria dos alimentos, mas que seus efeitos benéficos já estejam vastamente descritos na literatura. Substituindo-se um componente, usualmente um macronutriente por outro, cujos efeitos benéficos tenham sido demonstrados ou aumentando-se a bioviabilidade ou estabilidade de um composto conhecido por produzir efeito funcional ou reduzir o risco potencial do alimento.

Verifica-se que a tendência dos consumidores está mudando devido ao aumento de conhecimento na relação entre dieta e saúde (MARK-HERBERT, 2004) e, conseqüentemente, o mercado global de alimentos funcionais está aumentando anualmente, com indicativas de crescimento de mais de US\$ 50 milhões a cada ano, sendo o desenvolvimento de produtos com funcionalidade comprovada um desafio para a indústria e para a ciência (STANTON *et al.*, 2005).

1.2 FIBRAS ALIMENTARES

A fibra alimentar (FA) é descrita como uma classe de compostos de origem vegetal constituída, sobretudo de polissacarídeos e substâncias associadas, que, quando ingeridos não sofrem hidrólise, digestão e absorção no intestino delgado de humanos. Essa definição de natureza essencialmente fisiológica tem sido aceita, nos últimos anos, pela maioria dos pesquisadores que atuam nessa área da ciência. Polissacarídeos de origem animal, como a quitina e seus derivados, também, podem ser incluídos na definição de FA (PROSKY, 2001).

No Brasil, segundo a Agencia Nacional de Vigilância Sanitária na Resolução RDC nº 40 de 21 de março de 2001, a FA é definida como qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestivo de humanos e determinado segundo métodos publicados pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) em sua edição mais atual (BRASIL, 2001).

Já a AOAC define FA como: fenólicas de baixa massa molecular que estão associadas aos polissacarídeos da parede celular e interferem na sua estrutura química e, conseqüentemente, em seus efeitos fisiológicos. Em alguns casos, essa

associação é física e, em outros, essas substâncias estão covalentemente ligadas a esses polissacarídeos (MCDUGALL; SELVENDRAN, 2001).

Conforme sua solubilidade na água, a FA pode ser classificada em solúvel (FAS) e insolúvel (FAI). Na classificação nas FAS estão incluídas as pectinas, β -glicanos, gomas frutanos e uma fração da hemicelulose e nas FAI estão incluídas as ligninas, celulose e a maior parte da hemicelulose (MCDUGALL; SELVENDRAN, 2001). Dentre as FA mais utilizadas na indústria de alimentos com a finalidade de melhorar os atributos sensoriais e funcionais destacam-se a lactulose, amido resistente, rafinose e frutanos como a inulina e os frutooligossacarídeos (LOBO; FILISETTI, 2007).

1.3 EFEITOS DA FIBRA ALIMENTAR AO LONGO DO TRATO GASTRINTESTINAL

As fibras da dieta estão incluídas na ampla categoria dos carboidratos. Elas podem ser classificadas como solúveis, insolúveis ou mistas, podendo ser fermentáveis ou não-fermentáveis. A definição de fibra dietética sugere a inclusão de oligossacarídeos e de outros carboidratos não-digeríveis. Como os componentes da fibra dietética não são absorvidos, eles penetram no intestino grosso e fornecem substrato para as bactérias intestinais. As fibras solúveis são normalmente fermentadas rapidamente, enquanto as insolúveis são lentamente ou apenas parcialmente fermentadas (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002). A extensão da fermentação das fibras solúveis depende de sua estrutura física e química. A fermentação é realizada por bactérias anaeróbicas do cólon, levando à produção de ácido láctico, ácidos graxos de cadeia curta e gases. Conseqüentemente, há redução do pH do lúmen, o que reduz o crescimento de bactérias patogênicas do gênero *Clostridium* e *Pseudomonas*, estimulando a proliferação de células epiteliais do cólon bem como as bifidobactérias e os lactobacilos (CARABIN; FLAMM, 1999).

A capacidade de fibras captarem água está relacionada com sua estrutura tridimensional, com o pH e os eletrólitos presentes no meio. Essa propriedade está diretamente relacionada com o número de grupos polares livres como $-OH$ e, sendo assim, a capacidade de formação de géis é mais acentuada nas fibras solúveis. A presença de FA provoca, também, mudanças nas respostas dos diferentes hormônios presentes no lúmen intestinal (GROOP *et al.*, 1993).

A fibra presente no jejuno dilui o conteúdo intestinal e retarda a absorção de nutrientes, enquanto que no cólon, capta água, fixa cátions e é substrato para a microbiota presente no intestino (LAJOLO, 2001). No intestino grosso, as bactérias presentes no ceco e no cólon são responsáveis pela fermentação anaeróbia da fibra (LOBO; FILISETTI, 2007).

Sabe-se que alguns componentes da FA provocam mudanças morfológicas na mucosa intestinal por estimularem a proliferação bacteriana, e que a fermentação, pela microbiota, dos polissacarídeos não absorvidos pelo intestino delgado desempenha papel importante na modulação da troca celular intestinal (LAJOLO, 2001). Esses polissacarídeos não absorvidos são fermentados pelas bactérias do cólon produzindo gases (H_2 , CO_2 , CH_4), ácidos orgânicos como fumarato, succínico e lactato, além de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) dos quais os principais são o acetato, butirato e propionato (CUMMINGS; MACFARLANE, 2002), que constituem o combustível da célula epitelial do cólon (colonócito), gerando energia para o metabolismo celular (ROEDIGER, 1989).

Os AGCC são rapidamente absorvidos (de 90 a 95%), e em sua maioria, são oxidados e convertidos em corpos cetônicos na mucosa colônica ou alcançarão a circulação, onde então serão metabolizados no fígado. O propionato tem sua importância, pois inibe a síntese de colesterol pela ativação de enzimas 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase e sintase.

Em relação à velocidade do trânsito intestinal da massa fecal no cólon, foi observado que há uma relação inversa entre o volume e o tempo que esse material é retido no intestino grosso. O cólon humano contém importante população de bactérias, sobretudo anaeróbias e sacarolíticas, que atuam fermentando diferentes substratos. A capacidade de retenção de água pelas fezes está inversamente relacionada com a capacidade de fermentação da FA no cólon. Em consequência da menor digestibilidade e fermentabilidade da FA haverá maior retenção de água e aumento do volume e peso das fezes (LAJOLO, 2001).

1.4 PREBIÓTICOS E SEUS EFEITOS FISIOLÓGICOS

Prebiótico é um ingrediente alimentar não digerível que atua estimulando seletivamente o crescimento ou atividade de um número limitado de bactérias no cólon que podem melhorar a saúde do hospedeiro. Conforme descrito por Fooks *et*

al. (1999), o critério para classificação dos prebióticos como ingredientes alimentares, inclui a característica de ser ou não hidrolisado ou absorvido na parte superior do trato gastrointestinal; promoção seletiva do crescimento ou estimulação da atividade metabólica de bactérias benéficas como espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, de modo a favorecer uma composição mais saudável da microbiota intraluminal.

Estão habitualmente presentes nas frutas e vegetais tais como a banana, trigo, cevada, centeio, aspargo, alcachofra, cebola, tomate, alho e chicória. Seu consumo diário na Europa atinge até 11 gramas por dia, porém, nos Estados Unidos, não costuma passar de 4 gramas por dia. No Brasil não se têm dados quantitativos, mas provavelmente deve equiparar-se aos norte-americanos (DAMIÃO, 2006).

1.4.1 Efeitos fisiológicos do consumo freqüente de prebióticos

Alguns efeitos atribuídos ao consumo regular de prebióticos são a modulação de funções fisiológicas, como a absorção de cálcio e, possivelmente, o metabolismo lipídico, a modulação da composição da microbiota intestinal, a qual exerce um papel primordial na fisiologia gastrointestinal, e a redução do risco de câncer de cólon (ROBERFROID, 2002). Diversos estudos experimentais mostraram a aplicação da inulina e da oligofrutose como fatores bifidogênicos, ou seja, que estimulam a predominância de bifidobactérias no cólon. Conseqüentemente, há estímulo do sistema imunológico do hospedeiro, reduzindo significativamente o número de bactérias patogênicas no intestino, alívio da constipação e diminuição do risco de osteoporose resultante da má absorção de minerais, particularmente o cálcio (CASHMAN, 2002). Adicionalmente, há redução do risco de arteriosclerose, através da diminuição na síntese de triglicérides e ácidos graxos no fígado e por conseqüência há redução do nível desses compostos no plasma sanguíneo (KAUR; GUPTA, 2002).

Diversos estudos com ratos winstar e alguns com humanos mostraram que o consumo crônico de frutanos aumenta a biodisponibilidade de cálcio (REID, 2008; AZORÍN-ORTUÑO *et al.*, 2009). O aumento da biodisponibilidade do cálcio é devido à transferência desse mineral do intestino delgado para o grosso e do efeito osmótico desses compostos, o qual resultaria na transferência de água para o

intestino grosso, permitindo, assim, que o cálcio se torne mais solúvel. A melhor biodisponibilidade do cálcio no cólon poderia ser, também, resultante da hidrólise do complexo cálcio-fitato, por ação de fitases bacterianas que liberam o cálcio do complexo e também à diminuição de pH nos conteúdos do íleo, ceco e cólon. Isso resulta em aumento na concentração de minerais ionizados, facilitando a difusão passiva, a hipertrofia das paredes do ceco e o aumento da concentração de ácidos graxos voláteis, sais biliares, cálcio, fósforo, fosfato e, em menor grau, magnésio, no ceco (KAUR; GUPTA, 2002).

Enquanto o efeito sobre a colesterolemia é controverso, o efeito hipolipidêmico da inulina e da oligofrutose foi observado em alguns estudos com ratos. Dados experimentais conduziram à formulação da hipótese de que os frutooligossacarídeos poderiam reduzir a capacidade lipogênica hepática, através da inibição da expressão gênica das enzimas lipogênicas, resultando em secreção reduzida de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL)-triacilglicerol. Essa inibição poderia ser conseguida via produção de ácidos graxos de cadeia curta ou via modulação da insulinemia, através de mecanismos ainda não identificados, mas que estão sendo investigados (DELZENNE *et al.*, 2002).

O efeito de frutanos sobre a glicemia e a insulinemia ainda não foi elucidado e os dados disponíveis a esse respeito são, algumas vezes, contraditórios, indicando que esses efeitos dependem da condição fisiológica (em jejum ou estado pós-prandial) ou de doença (diabetes). É possível que, como ocorre no caso de outras fibras, a inulina e a oligofrutose influenciem na absorção de macronutrientes, especialmente de carboidratos, retardando o esvaziamento gástrico e/ou diminuindo o tempo de trânsito no intestino delgado. Adicionalmente, uma gliconeogênese induzida por inulina e oligofrutose poderia ser mediada por ácidos graxos de cadeia curta, especialmente o propionato (KAUR; GUPTA, 2002).

Com relação à absorção de minerais, a fermentação microbiana de frutanos, galactoligossacarídeos, lactulose e outros oligossacarídeos resistentes, bem como polióis e amidos resistentes à digestão no intestino delgado, são intensamente metabolizados, proporcionando desta forma, ambiente favorável para absorção de minerais como o ferro, cálcio, selênio, magnésio. Efeitos positivos do consumo de frutanos como a inulina e a oligofrutose na absorção de ferro, magnésio e cálcio têm sido amplamente investigados e demonstrados pela utilização de diferentes protocolos experimentais (SCHOLZ-AHRENS; SCHREZENMEIR, 2002). É

importante ressaltar que esses benefícios supracitados existem enquanto são ingeridos na dieta convencional de forma crônica. Cessada a ingestão, o perfil bacteriano bem como os outros benefícios retornam ao padrão que havia antes do consumo de prebiótico (BOUHNİK; FLOURIE; RIOTTOT, 1996).

Os ingredientes alimentares que cumprem com as condições dos prebióticos, até o momento, são os oligossacarídeos, tais como os frutooligosacarídeos (FOS), β -D-frutanos, gluco-oligosacarídeos (GOS), transgalacto-oligosacarídeos (TOS), isomaltooligosacarídeos (IMO) e inulina. A inulina e a oligofrutose, denominadas de frutanos, são fibras solúveis e fermentáveis, as quais não são digeríveis pela α -amilase e por enzimas hidrolíticas na parte superior do trato gastrointestinal (REID, 2008).

1.4.2 Frutooligosacarídeos

A maioria dos dados da literatura científica sobre efeitos prebióticos relaciona-se aos frutooligosacarídeos (FOS), sendo que diversos produtos comerciais estão disponíveis há anos, mas só recentemente que as empresas de alimentos têm adicionado tais fibras em produtos alimentícios (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002). Os FOS são formados por uma molécula de sacarose, com uma, duas ou três unidades de frutose unidas, mediante ligações β -(1-2) à molécula de sacarose. O grau de polimerização varia de 2 a 10 unidades, abreviados como GF2 (1-kestose), GF3 (nistose) e GF4 (frutosilnistose) (YUN, 1996; PINHEIRO, 2002). Estes oligossacarídeos derivados da sacarose são encontrados naturalmente em vegetais e plantas como alcachofra, raiz de chicória, dália, dente de leão, cebola, alho e banana. Mas, as concentrações presentes são baixas, exigindo um consumo muito elevado para a obtenção dos efeitos fisiológicos desejados (FERREIRA *et al.*, 2000).

Os FOS apresentam propriedades físicas e fisiológicas que os tornam ingredientes potenciais para aplicação em alimentos para fins especiais ou para alimentos funcionais. FOS são polissacarídeos que entram na classificação de fibras dietéticas por não serem hidrolizados por enzimas endógenas no ser humano (ROBERFROID, 2000).

1.5 INTOLERÂNCIA À LACTOSE

A deficiência em uma ou mais enzimas envolvidas na digestão da lactose pode levar a um distúrbio metabólico conhecido como intolerância da lactose. Se não tratada, pode haver sérios danos hepáticos e cegueira, oriunda de efeitos osmóticos nos canais oculares causados pelo acúmulo de galactilol (SCHAAFSMA, 2008). Alergia ao leite de vaca manifesta-se mundialmente em quase 2,5% das crianças menores de dois anos (HOST, 1990). As alergias às proteínas variam de leve (rinite, eczema atópico, otites) a alergias severas (enteropatias e bronquites).

A intolerância à lactose consiste na ausência ou deficiência da produção de lactase, enzima responsável por degradar esse carboidrato proveniente do leite e derivados durante a alimentação (KRAUSE; MAHAN, 2002). Este é um problema que atinge mais de 75% da população mundial (ALM, 2002), abrangendo cerca de 5% no norte da Europa, mais de 90% em alguns países africanos e asiáticos, 28% no Brasil (TÉO, 2002) e 30% nos Estados Unidos (SOLER, 2005), como é mostrado na Tabela 1.1.

TABELA 1.1- PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LACTASE, EM PORCENTAGEM DA POPULAÇÃO ADULTA

França	30 - 40
Alemanha	15 - 20
Rússia	20 - 30
Finlândia	15 - 20
Suécia	< 5
Grécia	70 - 80
Etiópia	80 - 90
Nigéria	80 - 90
Sudão	60 - 65
China	90 - 100
Japão	95 - 100
Índia	60 - 65
Israel	70 - 80
Estados Unidos (brancos)	10 - 15
Estados Unidos (negros)	65 - 70
México	50 - 60
Uruguai	60 - 65

FONTE: ALM (2002)

Segundo Pelto *et al.* (2000), há pessoas não tolerantes à lactose e aquelas hipersensíveis ao consumo do leite (bovino, caprino, bubalino), que, quando ingerido, provoca reações alérgicas e distúrbios abdominais, diminuindo a qualidade de vida. De fato a má absorção da lactose, oriunda da combinação da deficiência de lactase e ingestão de lactose em mais de 10 - 15 g diárias, pode gerar sintomas de rejeição ao leite e a diminuição da ingestão de alimentos lácteos (HEYMAN, 2006).

Em indivíduos intolerantes, a lactose ingerida permanece no intestino delgado sem sofrer hidrólise, provocando um fluxo de água extracelular para o interior do duodeno e jejuno, bem como para o estômago, em razão da diferença osmótica (TAMURA *et al.*, 2008). A lactose não absorvida é fermentada pela microbiota do cólon, resultando em ácidos orgânicos, gases e o aumento do peristaltismo dos músculos do intestino, com manifestações de flatulência, fluxo intestinal anormal, cólicas abdominais e diarreias com fezes aquosas. A intensidade dessas perturbações digestivas pode variar desde um mal-estar até o impedimento das atividades normais do indivíduo (LEHNINGER, 1986).

A estrutura química particular da lactose (Figura 1.1) dá o nome à enzima presente no intestino delgado humano, lactase, capaz de hidrolisá-la nos seus açúcares mais simples, glicose e galactose. A lactase está presente normalmente no trato digestivo de crianças, mas diminui ou desaparece em adultos, particularmente se eles não estão acostumados a beber leite. Pessoas com esta deficiência desenvolvem diarreia e outros sintomas ao beber leite (PYKE, 1975; FOOKS, 1999).

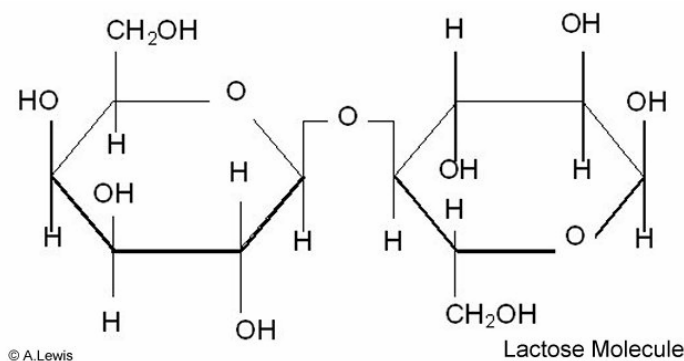


FIGURA 1.1- ESTRUTURA QUÍMICA DA LACTOSE

FONTE: HOST (1990)

1.6 PRODUTOS FUNCIONAIS SEM BASE LÁCTEA

O consumo de bebidas e alimentos contendo sem base láctea é uma tendência mundial crescente (VERBEKE, 2005). Com o crescimento do vegetarianismo e da alimentação saudável, há uma demanda constante por produtos livres de base láctea, que inclusive podem ser utilizados por segmentos da população que desejam produtos com menor teor de calorias, colesterol e com funcionalidade (RENUKA; KULKARNI; PRAPULLA, 2008).

Frutas e hortaliças são ricas em componentes funcionais como minerais essenciais, vitaminas e fitoquímicos como os flavonóides, além de possuírem grande aceitabilidade sensorial por parte das pessoas. Neste contexto, pesquisas mostraram que diversas hortaliças (LUCKOW; DELAHUNTY, 2006), frutas (YOON; WOODAMS; HANG, 2004) e cereais (ANGELOV *et al.*, 2006) são bases com potencial para desenvolvimento de novos produtos funcionais. Portanto, emulsões consumidas contendo sucos de fruta têm sido sugeridas como meios adequados para incorporação de compostos químicos com ação prebiótica e mesmo microorganismos probióticos, pois eles já estarão em um produto com propriedades nutricionais benéficas e são consumidos freqüentemente por uma grande parte da população (TUORILA; CARDELLO, 2002).

Produtos à base de soja combinados com sucos de frutas são a nova geração de produtos do gênero, sendo uma maneira conveniente para incluir a proteína de soja na dieta básica (POTTER *et al.*, 2007), além de ser alternativa para os consumidores portadores da intolerância parcial ou total à lactose presentes em leites e derivados. A venda de bebidas e sobremesas formuladas com soja, nos Estados Unidos, dobrou desde o ano 2000, tornando esses produtos uma importante categoria no mercado, acumulando vendas maiores de US\$ 100 milhões anualmente (BEVERAGE MARKETING CORPORATION OF NEW YORK, 2005).

No Brasil, o consumo de produtos à base de soja cresceu gradualmente nos últimos anos, com venda de 51 milhões de quilos em 2002 para 110,5 milhões em 2005. Este aumento no consumo de produtos à base de soja prontos para consumo deve-se à demanda do consumidor por produtos saudáveis e práticos, às novas tecnologias de produção que permitem obter produtos com melhores características sensoriais e à oferta constante de produtos com sabores diferenciados (ABIA, 2008). Com relação às sobremesas à base de soja, no Brasil não há muita variedade, não

havendo sequer uma amostra no varejo adicionado de suco de frutas tropicais, sendo que preparações tipo iogurte são algumas opções para inclusão da soja na dieta convencional.

1.7 SOJA E SEU EXTRATO HIDROSSOLÚVEL

A produção de soja no Brasil foi de 51 milhões de toneladas em 2005, em 2006 a produção chegou a 52,4 milhões, em 2007 foi de 53,04 milhões e em 2008 alcançou 59,5 (IBGE, 2009). O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009) mostra que a soja ainda é o produto mais plantado no país, concentrada no estado do Mato Grosso, com 43% total da produção. Em seguida aparecem o Paraná (19%), Goiás (14%) Mato Grosso do Sul (7%), Minas Gerais (6%), Rio Grande do Sul e Bahia (com 5%), São Paulo (2%), Maranhão (1%) e os demais estados produtores (3%).

No Brasil, segundo produtor mundial de soja, cerca de 70% do farelo de soja é destinado à exportação e os 30% restantes utilizados em ração animal e uma proporção reduzida como matéria-prima industrial na forma de isolados e concentrados protéicos (GENOVESE; LAJOLO, 2002). O processamento da soja dá origem a diferentes matérias-primas como farinhas de soja, extratos hidrossolúveis e proteínas texturizadas que podem ser utilizados na produção de diversos tipos de alimentos (EMBRAPA, 2007).

Nos últimos anos, novos produtos a partir de soja têm sido desenvolvidos pelas indústrias alimentícias e observa-se uma maior demanda devido à divulgação dos benefícios à saúde atribuídos ao consumo desta leguminosa (EMBRAPA, 2007).

A soja e seus derivados têm recebido atenção dos pesquisadores, principalmente devido à quantidade e qualidade de sua proteína, sendo considerada, dentre os vegetais, o melhor substituto de produtos de origem animal (DE ANGELIS, 1999). A proteína de soja apresenta um bom perfil de aminoácidos, sendo considerados limitantes apenas os sulfurados como a cisteína, cistina e metionina (FRANCO, 1996). Além disso, a soja é fonte de fibras solúveis (DE ANGELIS, 1999), magnésio, fósforo, cobre e zinco, além das vitaminas K, E, tiamina riboflavina e ácido fólico (USDA, 2003).

Possui isoflavonas e outros flavonóides (WANG; MURPHY, 1994), compostos com forte atividade antioxidante, capazes de atuar na prevenção de doenças

crônico-degenerativas não-transmissíveis como o câncer (RODRIGUES, 2003; WANG *et al.*, 2006). Estudos têm revelado que os compostos fenólicos, geralmente agliconas e algumas isoflavonas, encontrados em alimentos contendo soja como o missô, natô (ESAKI *et al.*, 1994) e tempê (MURAKAMI *et al.*, 1984) possuem atividade antioxidante.

A soja, no entanto, possui oligossacarídeos como a rafinose e estaquiose (Figura 1.2), compostos que não são digeridos por seres humanos e podem causar flatulência se ingeridos em quantidades acima de 5 g diárias (THANANUNKUL *et al.*, 1976).

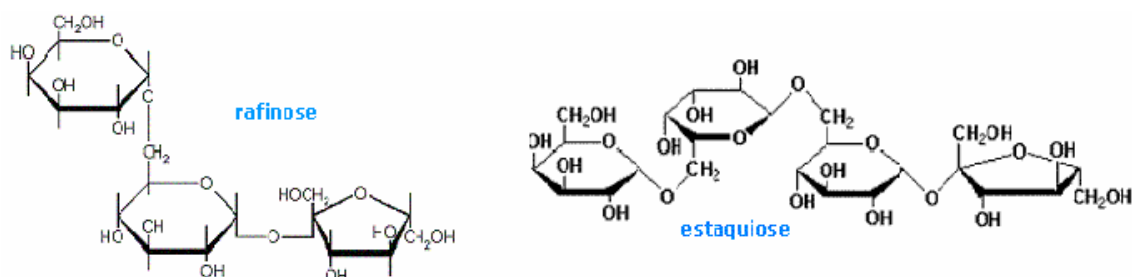


FIGURA 1.2- ESTRUTURA QUÍMICA DOS OLIGOSSACARÍDEOS RAFINOSE E ESTAQUIOSE PRESENTES NA SOJA.

FONTE: ROBERFROID (2000)

Para muitas pessoas, o EHS pode substituir o leite de vaca devido à intolerância à lactose. O consumo de produtos com proteína de soja tem mostrado diminuição do trânsito orocecal, e com isso há melhoria nos quadros de constipação, melhorando a qualidade de vida dos indivíduos acometidos (SANDERS, 1993).

Comparado ao leite bovino, o EHS tem um teor mais elevado de proteína, ferro, ácidos graxos insaturados e niacina, e um teor inferior de lipídeos, carboidratos e cálcio, além de ser totalmente livre de lactose e colesterol (LIU, 1997).

A principal limitação no desenvolvimento de produtos à base de soja é seu sabor adstringente devido à ação enzimática sobre os ácidos graxos polinsaturados (BEHRENS; ROIG; SILVA, 2004). O Conselho Unido da Soja dos Estados Unidos, *United Soybean Board* (2005), reportou que o gosto é a primeira razão para 18% dos consumidores, de 1000 entrevistados, excluírem da sua dieta regular produtos oriundos de soja. Uma imagem negativa do sabor adstringente é o primeiro fator de

rejeição pelas mulheres (RAH *et al.*, 2004). No Brasil, apesar do grande potencial do extrato hidrossolúvel de soja, este ainda obtem baixa aceitação, basicamente devido ao sabor e aroma desagradáveis ao paladar dos consumidores brasileiros (BEHRENS; ROIG; SILVA, 2004).

Nesse sentido, para produção de sobremesas, bebidas mistas, gelados comestíveis e afins a base da leguminosa é conveniente a adição de aromas, saborizantes e/ou sucos de frutas, no intuito de torná-las mais aceitáveis sensorialmente, além de enriquecê-las com nutrientes essenciais.

1.8 GOIABA

A goiaba vermelha (*Psidium guajava*), uma espécie pertencente à família *Myrtaceae*, é originária da região tropical das Américas e foi disseminada para as diferentes regiões do mundo, constituindo-se em uma das mais importantes matérias-primas para as indústrias de sucos, polpas e néctares devido à sua aceitação no mercado (LEMOS *et al.*, 1995).

O cultivo da goiaba é um dos mais importantes em países tropicais e subtropicais. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial da fruta, junto com o México e o Paquistão, sendo que o Estado de São Paulo é o maior produtor de goiaba no país, com 6 mil hectares plantados, o que totaliza cerca de 70% da produção nacional. Outros produtores que vêm se destacando na produção de goiabas tanto para o mercado interno quanto para a exportação são Goiás e Paraná (FERREIRA, 2000).

A goiaba é uma fruta considerada muito importante dentro do contexto da fruticultura brasileira, encontrando-se em expansão. Embora a sua produção no Brasil represente aproximadamente 280 mil toneladas, concentradas nos meses de fevereiro e março, a comercialização da fruta ocorre o ano todo (MANICA *et al.*, 2000).

A alta perecibilidade, juntamente com a falta de disponibilidade de armazenamento durante os meses de pico de processamento industrial/safra, contribuem para perdas pós-colheita ao redor de 30%, tornando-se necessário o desenvolvimento de mais produtos para um melhor aproveitamento tecnológico (MURAKAWA, 1998).

Nutricionalmente o fruto é composto por proteínas (1,1 g/100 g), carboidratos totais (13 g/100 g), fibras alimentares (6,2 g/100 g), minerais fixos (0,5 g/100 g) e possui quantidades inexpressivas de lipídeos totais (0,4 g/100 g) (TACO, 2006). Além disso, estudos químicos de diversas variedades de goiaba vermelha têm mostrado seu potencial como alimento funcional por conter compostos químicos com comprovadas bioatividades, como vitaminas B₅, B₂, B₁ e A, além de ser considerada uma das melhores fontes de vitamina C, apresentando um conteúdo que varia de 55 a 1.044 mg por 100g de polpa fresca (MENZEL, 1985).

Quimicamente, a polpa da goiaba vermelha possui também diversos carotenóides como o fitolueno, criptoflavina, luteína e neocroma (MERCADANTE; STECK; PFANDER, 1999) que também já foram isolados e identificados de diversas variedades de goiaba vermelha. β -criptoxantina, β -caroteno, rubixantina, γ -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001) e o licopeno (MOREIRA; SHAMI, 2004) (Figura 1.3) estão em maiores proporções. Compostos fenólicos como a mircetina e apigenina (MIEAN; MOHAMED, 2001), ácido elágico e antocianinas (MISRA; SESHADRI, 1968) também estão presentes em elevados teores nas goiabas.

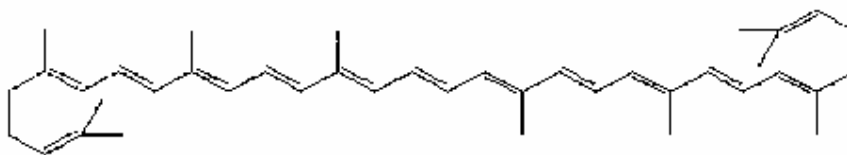


FIGURA 1.3- ESTRUTURA QUÍMICA DO LICOPENO

FONTE: BENDICH; OLSON (1989)

Trabalhos científicos mostraram que sucos concentrados de goiaba vermelha possuem razoável atividade antioxidante (FERREIRA; AVACA, 2007). Wang, Cao e Prior (1996) compararam a atividade antioxidante de diversas frutas e verificaram que a goiaba apresentou a maior atividade frente às seguintes frutas: melão, pêra, tomate, maçã, banana, uvas branca e rosada, pomelão, laranja, kiwi, morango e ameixa, evidenciando seu potencial como alimento funcional. Thaipong *et al.* (2006) analisaram diversos extratos polares (metanólico, etanólico e acetato de etila) de polpa de goiaba vermelha frente à atividade antioxidante e verificaram que os compostos fenólicos e ácido ascórbico foram os principais responsáveis pela atividade observada.

1.8.1 Suco de goiaba

As frutas são indispensáveis à dieta humana e um fator que dificulta o hábito do consumo de certas frutas e sua aplicação na indústria alimentícia, é a sua sazonalidade. A maioria delas tem sua safra apenas em alguns meses, ocorrendo elevada perda e deterioração, sendo assim, só poderão atender ao mercado varejista e serem introduzidas nos hábitos de consumo cotidiano se forem processadas e estocadas para a comercialização durante o ano todo (CUNHA *et al.*, 2005).

Alternativas de processamento dessas frutas podem ser inúmeras como o congelamento de polpas, produção de geléias, farinhas mistas para produção de biscoitos doces e salgados, barras de cereais, compotas, frutas em calda, molhos exóticos, néctares, sucos tipo UHT, sucos mistos, sucos desidratados ou sucos concentrados. Após o processamento o produto final agrega valores em relação à fruta *in natura*, reduz as perdas e apresenta facilidade no seu preparo para consumo (BALBACH; BOARIM, 1992).

Dentre os principais avanços do segmento de bebidas destaca-se o crescente interesse da sociedade pela comercialização dos sucos e polpas nas mais diversas formas de apresentação do produto (FINNEGAN, 2003). Neste sentido, a elaboração manual de sucos de frutas tornou-se um inconveniente ao ritmo de vida acelerado da sociedade (LEE; COATES, 1999) e, por isso, o consumidor brasileiro tem demonstrado interesse crescente em consumir produtos "prontos para o consumo", o que impulsionou, a partir da década de 90, o surgimento de diversas marcas comerciais de sucos de frutas industrializados no mercado nacional (LIMA; MALLO; LIMA, 2000).

De acordo com a Instrução Normativa do Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento número 12 de 04 de setembro de 2003, Suco Tropical é o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta polposa de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo. Suco de goiaba é a bebida não fermentada, obtida pela dissolução, em água potável, da polpa da goiaba (*Psidium guajava*), por meio de processo tecnológico adequado e de conter, no mínimo, 50% de polpa (m/m), acidez de 0,30% em ácido cítrico e sólidos solúveis

totais a 20°C de 6ºBrix, não devendo apresentar uma quantidade de 15% de açúcares totais.

Morgano, Queiroz e Ferreira (1999) estudaram a composição mineral de diversos sucos concentrados de frutas tropicais comercializados no Brasil e verificaram que o suco concentrado de goiaba possui uma variedade bastante significativa de minerais essenciais, contendo teores médios de cobre (0,026 mg/100 mL), cálcio (2,74 mg/100 mL), fósforo (6,56 mg/100 mL), ferro (0,063 mg/100 mL), manganês (0,062 mg/100 mL), sódio (16,2 mg/100 mL), zinco (0,046 mg/100 mL) e magnésio (3,40 mg/100 mL), sendo que o suco pode ser considerado uma fonte excelente e inovadora para desenvolvimento de produtos.

1.9 CAROTENÓIDES

Os carotenóides são pigmentos naturais muito comuns em plantas e animais. São eles que proporcionam as cores amarela, laranja e vermelha a vários alimentos. Alguns deles (como o α e β -caroteno) presentes em alimentos de origem vegetal são provitaminas, que podem ser biologicamente transformados em vitamina A (RODRIGUEZ-AMAYA, 1989), que apresenta diversas funções fisiológicas como participação do grupo prostético das opsinas, melhorando a visão, inicia o impulso nervoso, age como carregador de resíduos manosil, na síntese de algumas glicoproteínas, na produção de muco e na resistência às infecções, mediada pela ação moduladora da resposta imune. Também age como reguladora e moduladora do crescimento e da diferenciação celular (YUYAMA *et al.*, 2007).

A estrutura básica dos carotenóides é um tetraterpeno de 40 carbonos, simétrico e linear, sendo formado a partir de 8 unidades isoprenóides de 5 unidades de carbono. Esse esqueleto básico pode sofrer modificações por hidrogenação, ciclização, desidrogenação, migração da dupla ligação, encurtamento ou extensão da cadeia, reordenação, isomerização, introdução de funções oxigenadas ou por combinações destes processos, resultando em uma diversidade de estruturas (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Estudos têm sido realizados no sentido de avaliar o potencial protetor de compostos antioxidantes relacionados aos efeitos nocivos da oxidação. Durante os processos bioquímicos, espécies reativas de oxigênio e outros radicais com alta energia são às vezes formados. Estes, uma vez presentes, podem interagir com

vários constituintes das células, incluindo lipídios, carboidratos, proteínas e DNA, causando a perda de suas funções específicas na célula.

Muitos são os compostos naturais com potencial oxidante, entre eles destacam-se: polifenóis, tocotrienóis e tocoferóis (vitamina E); alguns aminoácidos, com destaque para a cisteína, primeiro antioxidante estudado *in vivo* como protetor contra radiação ionizante; a vitamina C, como também os flavonóides e os fitoquímicos. Ainda, dentre estes se incluem os carotenóides, do qual fazem parte a bixina, o licopeno, a astaxantina e a vitamina A, aos quais se têm dado grande enfoque (Yl *et al.*, 2009).

Pesquisas médicas têm mostrado que a grande ingestão de vegetais ricos em carotenóides está associada com a redução dos riscos de doenças degenerativas não-transmissíveis, como câncer e doenças cardiovasculares (GRAÇA DIAS; FILOMENA; OLIVEIRA, 2009). Segundo Qing, Rowley e Balazs (2002) é consistente a hipótese dos benefícios associados ao consumo de vegetais ricos em carotenóides e a redução dos riscos de enfermidades crônicas não-transmissíveis relacionadas. Embora nem todos os estudos tenham mostrado evidências, muitas destas pesquisas observaram uma indireta relação entre a concentração de carotenos no plasma sanguíneo e os riscos de doenças cardiovasculares e mortalidade pelo câncer. Além disso, os autores reportam que o efeito protetor contra câncer de pulmão foi observado para um elevado consumo de tomates, alface e cenoura.

1.9.1 Licopeno

Entre os carotenóides, o licopeno é um dos mais abundantes no corpo humano, sendo sua alta concentração devida, principalmente, ao consumo de alimentos fontes (KHACHIK *et al.*, 2002). O licopeno é um dos 700 pigmentos carotenóides encontrados na natureza e um dos 25 encontrados no plasma e tecidos humanos. Caracterizado por uma estrutura simétrica e acíclica, é constituído somente por átomos de carbono e hidrogênio, contendo 11 ligações duplas conjugadas e 2 ligações não conjugadas (KHACHIK *et al.*, 2002; MCCLAIN; BAUSCH, 2003).

Sua estrutura é responsável pela coloração vermelho-alaranjada de frutas e vegetais nas quais está presente (BRAMLEY, 2000). Esse carotenóide não apresenta atividade de pró-vitamina A, mas tem um efeito protetor direto contra radicais livres (LUGASI *et al.*, 2003; NUNES; MERCADANTE, 2004), sendo considerado um antioxidante protetor das células por reação com os radicais peróxidos e com o oxigênio (RAO; SHEN, 2002; SHAMI; MOREIRA, 2004).

O organismo humano não é capaz de sintetizar carotenóides, dessa forma eles são obtidos exclusivamente por meio da dieta alimentar. O licopeno pode ser encontrado em um número limitado de alimentos; o tomate e seus derivados são as melhores contribuições dietéticas, mas são boas fontes desse elemento também o mamão, a goiaba vermelha, a pitanga e a melancia (BRAMLEY, 2000; SHAMI; MOREIRA, 2004; RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN; KIMURA, 2007).

Vários estudos vêm demonstrando uma relação inversa entre o consumo de alimentos fontes de licopeno e risco de câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas não transmissíveis (RAO; AGARWAL, 2000; KHACHIK *et al.*, 2002). A maioria das investigações tem sugerido os efeitos das dietas ricas em licopeno na contribuição da redução dos riscos da ocorrência de câncer de esôfago, gástrico, próstata, pulmão, e benefícios para câncer de pâncreas, cólon, reto, cavidade oral, seio e cervical (LUGASI *et al.*, 2003; MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003). Além disso, tem sido reportado que o licopeno possui ação seqüestradora de oxigênio *singlet* e por isso é um composto que detém efeito protetor contra os radicais livres produzidos no corpo pelas reações de peroxidação nas células dos tecidos humanos (RAO; SHEN, 2002).

A quantidade de licopeno nas frutas e vegetais varia de acordo com a estação do ano, estágio de maturação, variedade, efeito climático e geográfico, local de plantio, manejo pós-colheita e do armazenamento; em geral, quanto mais avermelhado for o alimento, maior será sua concentração de licopeno. As maiores concentrações de licopeno estão, em geral, nas cascas dos alimentos fontes, quando comparadas à polpa dos mesmos frutos, sendo sua maior concentração em alimentos produzidos em regiões de climas quentes (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). De acordo com Bramley (2000), 85% do licopeno consumido na dieta dos norte-americanos vêm do tomate ou de seus derivados.

Contudo, não há ainda uma quantidade específica, mínima ou máxima, prescrita de licopeno que seja considerada segura para ingestão (NAVES, 1998).

Segundo Rao e Shen (2002), um consumo entre 5 e 10 mg de licopeno por dia é suficiente para a obtenção dos benefícios desse nutriente. Outros autores sugerem a ingestão de 4 mg/dia de carotenóides, não excedendo 10 mg/dia (NAVES, 1989; RODRIGUEZ-AMAYA, 1989). Já para Rao e Agarwal (2000), o consumo médio desses antioxidantes deveria ser de 35 mg/dia. Ressalta-se que essas dosagens são sugeridas para a população sadia. Rao e Shen (2002) sugerem que a necessidade desse antioxidante esteja aumentada em algumas doenças, sendo necessário um estudo detalhado para determinar sua quantidade e seus efeitos. Há discórdia no que diz respeito às recomendações nutricionais de ingestão de licopeno; dessa forma, necessita-se de mais estudos para que essa recomendação atenda as necessidades humanas.

1.10 EMULSÕES ALIMENTÍCIAS

Emulsão pode ser definida como a mistura entre dois líquidos imiscíveis em que um deles (a fase dispersa) encontra-se na forma de finos glóbulos no meio do outro líquido (a fase contínua) (MCCLEMENTS, 2005). As emulsões em alimentos são muito complexas, pois a fase aquosa pode conter diversos ingredientes solúveis, incluindo moléculas de açúcares, sais, ácidos, bases, proteínas e carboidratos. E a fase oleosa geralmente contém uma mistura complexa de componentes solúveis como triglicerídios, diglicerídios, monoglicerídios, ácidos graxos livres, esteróis e vitaminas, ao passo que na interface da fase óleo/água pode haver mistura de muitos componentes 'membrana-ativos' como proteínas, fosfolípidos, monoglicerídeos e outros surfatantes (NUSSINOVITCH, 1997; ARAÚJO, 2004).

O processo de emulsificação é feito basicamente com um misturador comum a uma temperatura constante. Entretanto, ultimamente têm sido utilizadas novas técnicas, com instrumentos modernos que utilizam pressão alta, ultra-som, rotores e sistemas de membranas (BECHER, 2001). A emulsificação inclui dois passos: deformação e diminuição das gotículas da fase dispersa, aumentando a área de contato específica da emulsão; e a estabilização da interface óleo/água por um emulsificante no intuito de prevenir a coalescência (MCCLEMENTS, 2005).

1.10.1 Estabilidade da emulsão

A energia livre durante a formação da emulsão é usualmente positiva e por esta razão as emulsões são termodinamicamente instáveis, sendo necessária a utilização de proteínas e surfatantes de baixa massa molecular para conferir a emulsificação evitando coalescência e promovendo maior vida-de-prateleira (DICKINSON, 2003).

Por serem instáveis, as emulsões não se formam espontaneamente, sendo necessário fornecer energia para formá-las através de agitação, de homogeneização, ou aspersão. Com o tempo, as emulsões tendem a retornar para o estado estável de óleo separado da água (LOBO; SVEREIKA, 2003). Em vista disso, a maioria das emulsões é preparada na presença de emulsificantes (LOBO, 2000). Agentes emulsificantes aumentam a sua estabilidade cinética tornando-as razoavelmente estáveis e homogêneas. A Figura 1.4 mostra: dois líquidos imiscíveis separados em duas fases (A); emulsão da fase ii dispersa na fase i (B); a emulsão instável progressivamente retorna ao seu estado inicial de fases separadas (C); o surfatante se posiciona na interface entre as fases i e ii, estabilizando a emulsão (D).

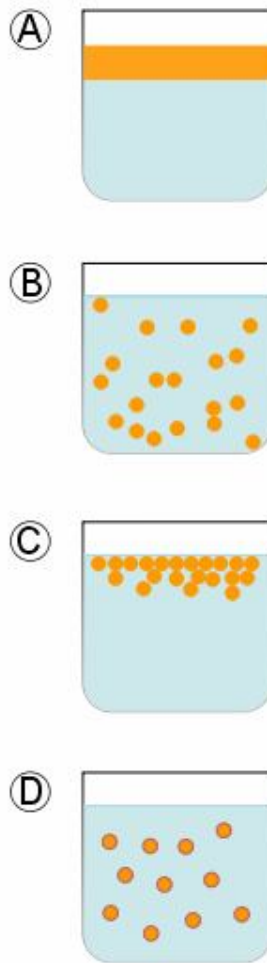


FIGURA 1.4- ESTABILIDADE DE EMULSÕES ALIMENTÍCIAS.

FONTE: MCELEMENTS (2005)

De acordo com Izquierdo *et al.* (2002), a estabilidade de uma emulsão depende essencialmente de três fenômenos: sedimentação, floculação e quebra da emulsão devido à coalescência das gotículas dispersas. Outros fatores como pH, temperatura, força iônica, concentração de proteína e a razão proteína/óleo também afetam as propriedades físicas das emulsões (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

A sedimentação resulta de uma diferença de densidade entre as duas fases e consiste na migração de uma das substâncias para o topo da emulsão, não sendo necessariamente acompanhada de floculação das gotas. As colisões entre as gotas podem resultar em floculação, que pode levar a coalescência em glóbulos maiores. Eventualmente, a fase dispersa pode se tornar a fase contínua, separada da dispersão média por uma única interface.

Coalescência de partícula é um processo em que duas gotas fundem-se formando uma gota maior, envolve a ruptura do filme superficial de cada gota independente das demais, é um processo irreversível, que pode resultar em quebra da emulsão (VAN AKEN; BLIJDENSTEIN; HOTRUM, 2003).

O tempo levado para tal separação de fases pode ser de segundos ou até anos, dependendo da formulação da emulsão. Para aumentar a estabilidade cinética das emulsões, o agente emulsificante pode ser adicionado, formando um filme adsorvido ao redor das gotas dispersas que ajudam a prevenir a floculação e a coalescência (MCCLEMENTS, 2005).

Em muitas aplicações industriais, a estabilidade da emulsão não é o único parâmetro de consideração porque, às vezes, a desestabilização controlada da emulsão é requerida para promover textura desejável e qualidade no produto final, como em cremes batidos e sorvetes (DARLING; BIRKETT, 1986).

1.10.2 Emulsificantes/estabilizantes

Os emulsificantes são moléculas ativas que aderem à superfície das gotas formadas durante a homogeneização e constituem, assim, uma membrana protetora que impede a aproximação das mesmas, evitando agregação, sua função principal é promover a formação e a estabilidade da emulsão a curto prazo (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

Os emulsificantes usados em alimentos são derivados de materiais biológicos ou sintetizados a partir de ácidos graxos, triglicerídeos e compostos hidrofílicos. Os hidrocolóides, tais como carboximetilcelulose e goma guar, atuam como estabilizante em emulsões óleo em água e por isso na maioria dos sistemas emulsificantes utiliza-se a sinergia do emulsificante misturado às gomas. McClements (2005) e Araújo (2004) afirmam que sistemas emulsificantes promovem a mistura homogênea de líquidos imiscíveis, funcionam como agente estabilizador de espumas em mousses e sobremesas

Os agentes espessantes (polissacarídeos), bem como as proteínas são ingredientes utilizados para aumentar a viscosidade da fase contínua da emulsão, retardando a movimentação das gotas e, portanto, aumentando a estabilidade a longo prazo (ARAÚJO, 2004). Os polissacarídeos são utilizados na indústria de alimentos para estabilizar emulsões óleo em água e controlar suas propriedades

reológicas (PARASKEVOPOULOU *et al.*, 2003). São inodoros, incolores e insípidos, têm baixo valor calórico e digestibilidade. A maioria apresenta pouca atividade de superfície e a incorporação em emulsões óleo em água inibe o “creaming” por aumento na viscosidade da fase aquosa, preservando as propriedades de textura.

1.11 ALIMENTOS ADICIONADOS DE MINERAIS ESSENCIAIS

As mudanças de hábitos alimentares, devido ao grande aumento de alimentos industrializados, e substituição de refeições completas por *fast foods* têm diminuído a ingestão de alimentos naturais ricos em micronutrientes. Dessa forma uma das estratégias de combate a algumas deficiências nutricionais inclui a fortificação de alimentos com minerais. Os produtos de panificação, como os biscoitos, podem ser uma excelente fonte de ingestão de minerais pela população, quando enriquecidos com grãos, sementes ou mesmo minerais essenciais (COZZOLINO, 2007a).

Segundo Cozzolino (2007b), até 2020 ainda existirão altos índices de desnutrição em âmbito mundial. A deficiência de micronutrientes, mesmo sendo de fácil solução, ainda é um problema para cerca de dois milhões de indivíduos. Portanto, o desenvolvimento de alimentos que sejam fontes de minerais e vitaminas essenciais é de extrema importância tanto para a indústria alimentícia quanto para os consumidores.

Embora os minerais representem apenas de 4 - 6% da massa total do corpo (GROFF; GROPPER, 2000), eles são de suma importância nas funções basais do organismo e devem estar presentes em quantidades satisfatórias na dieta (FREELAND GRAVES; TROTTER, 2003). Íons minerais desempenham um papel essencial na regulação de atividades enzimáticas, mantém o balanço osmótico e ácido-base do organismo, facilitam a transferência de nutrientes essenciais e mantém a sensibilidade de células nervosas e musculares (ANDERSON, 2004). Estudos têm evidenciado que 70% dos homens e 80% das mulheres consomem alimentos que possuem menos de um terço dos minerais essenciais e das vitaminas (REDMON, 1999). Em crianças e em idosos, baixas ingestões de minerais levam a deterioração das respostas imunes (LESOURD, 1997).

A fortificação de alimentos tem sido identificada como uma das mais efetivas e sustentáveis formas de controle da deficiência do ferro em populações (INCG, 1977). Os minerais são freqüentemente suplementados em alimentos para café da

manhã e são, raramente, utilizados em bebidas e sobremesas prontas para o consumo (ABRAMS *et al.*, 2001). Bebidas fortificadas com micronutrientes como o ferro (ABRAMS *et al.*, 2003) e o zinco (ASH *et al.*, 2003) mostraram eficácia na melhora do estado nutricional de crianças com deficiência de minerais, ressaltando a importância da suplementação (LATHAM *et al.*, 2001).

Segundo Sloan (2003), aproximadamente 47% dos consumidores acreditam que os alimentos e bebidas fortificados podem suprir suas necessidades diárias de vitaminas e minerais. Muitos trabalhos científicos têm apresentado dados que apontam uma ingestão insuficiente de vários nutrientes por parte da população mundial, dentre eles o ferro. Para tentar amenizar esse quadro e atender as recomendações em relação aos teores de compostos responsáveis pela manutenção da saúde, produtos alimentícios têm sido enriquecidos (LIMA; CATHARINO; GODOY, 2004). Sobremesas à base de soja não possuem quantidades significativas de ferro (TACO, 2006; USDA, 2008), mineral essencial às diversas funções bioquímicas do organismo. Sendo assim, o enriquecimento de ferro em produtos à base de EHS visa melhorar suas qualidades nutricionais (VERRUMA; SALGADO, 1984).

De acordo com a Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), considera-se alimento fortificado/enriquecido de nutrientes todo alimento ao qual for adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e ou prevenir ou corrigir deficiência(s) demonstrada(s) em um ou mais nutrientes, na alimentação da população ou em grupos específicos da mesma. Para alimentos serem considerados *fonte* de ferro, esses devem conter pelo menos 15% da IDR (2,10 mg) para cada 100 g de produto final.

1.11.1 Ferro

A diversidade e a essencialidade das funções às quais o ferro se encontra relacionado tornaram esse metal do grupo 8 da classificação periódica um dos micronutrientes mais estudados e de melhor caracterização quanto ao seu metabolismo (HENRIQUES; COZZOLINO, 2007).

Atualmente, a anemia é de longe a maior doença causada pela deficiência de um micronutriente, atingindo cerca de 3 milhões de pessoas em todo o mundo (WHO, 2001). É a única deficiência de consideração em países desenvolvidos (DEMAEYER; ADIELS-TEGMAN, 1985) e em países em desenvolvimento como o Brasil, a deficiência é oriunda da baixa ingestão de ferro com biodisponibilidade (OLIVARES *et al.*, 1999), sendo que 52% das mulheres grávidas, 39% das crianças menores que 4 anos e 48% das crianças entre 5 e 14 anos estão anêmicas.

Para tentar melhorar esse panorama, em 2007, o Ministério da Saúde do Brasil aplicou R\$ 47 milhões para promover a alimentação saudável, vigilância nutricional e controlar as deficiências nutricionais e doenças associadas à má alimentação, incluindo a anemia, doença que afeta milhares de pessoas por todo o território. Três milhões de crianças e um milhão de gestantes receberam sulfato ferroso e para 2008, a estimativa é de que o Programa investisse R\$ 126 milhões. As metas são: ampliar a cobertura do Sistema de Gestão Federal/Estadual da Vigilância Alimentar e Nutricional (Sisvan) para todas as crianças e para 40% da população acima de 20 anos; garantir sulfato ferroso para 3,5 milhões de crianças menores de dois anos e 1,5 milhão de gestantes (SCSPR, 2007).

No Brasil, estudos evidenciaram índices de prevalência de anemia, variando de 22% a 80% em crianças menores de 5 anos de idade. A ingestão de ferro nas dietas é limítrofe em relação às recomendações, somada à biodisponibilidade, que é baixa devido aos inibidores como os fitatos. Estudos realizados com dietas brasileiras apontam ingestão de ferro variando de 6,0 a 12,0 mg/dia (FAVARO *et al.*, 1997) e a biodisponibilidade ao redor de 5% em refeições mistas. Portanto, a recomendação da fortificação de alimentos seria a medida mais eficaz a médio e longo prazo para a solução deste importante problema de saúde pública no país, em níveis adequados para garantir bom estado nutricional da população (COZZOLINO, 1997).

O conteúdo de ferro no organismo varia de 45 - 60 mg/kg de peso corporal do homem e 35 - 41 mg/kg na mulher. O íon ferro faz parte da mioglobina, responsável pela estocagem do oxigênio no músculo e dos citocromas que asseguram a respiração celular. É capaz de ativar numerosas enzimas como a catalase, que assegura a degradação dos radicais livres (peróxidos) prejudiciais, além de estar envolvido em muitas reações de óxido-redução (HOPKINS *et al.*, 1997). O déficit de ferro ocasiona uma diminuição das defesas imunitárias e, portanto, de um lado, uma

menor resistência às infecções, e de outro, um risco adicional de câncer por esta menor resistência, além de alteração das estruturas epiteliais, anemia, desregulamento de temperatura e deficiência na produção do hormônio da tireóide e em infantes acarreta o retardamento do crescimento e o ganho de massa corporal (FAIRBANKS, 1994).

Tem-se demonstrado que modificações histológicas, como atrofia muscular, são cumulativas e não reversíveis, além de constituírem excelente medida do grau de desnutrição crônica e de seus efeitos. Aspectos ligados ao sistema imune, como reduzida porcentagem de linfócitos T, reação positiva diminuída na pele por antígenos comuns e diminuição da atividade da enzima granulócito mieloperoxidase com a respectiva redução na capacidade antimicrobiana, também tem sido observados em indivíduos deficientes em ferro, em grande parte pela reduzida ativação de mecanismos de oxirredução mediadas por átomos do metal (WHO, 2000).

Em dietas mistas, a absorção de ferro-heme, a forma mais absorvível pelo organismo, varia de 15 a 20%. Mas de modo geral, 5 a 10% do ferro alimentar são absorvidos por indivíduos com estado nutricional adequado em relação a esse mineral. Em pessoas com deficiência, entretanto, a absorção chega a 30%. Há várias observações independentes que sugerem no homem normal há um mecanismo de controle efetivo que previne o acúmulo do excesso de ferro no organismo (HUNT, 2001).

Alimentos como espinafre, ervilhas, leguminosas como a soja e o feijão possuem maiores densidades de ferro (mg/kcal) do que carnes e derivados do leite. Entretanto, nem todo o ferro contido no alimento nem a densidade do nutriente são guias sensíveis para a escolha da fonte de ferro alimentar, pois algumas delas são praticamente não-biodisponíveis. A biodisponibilidade do ferro presente na alimentação, portanto, depende da forma química, da presença ou ausência de fatores que influenciam a absorção, e das necessidades de ferro do indivíduo (HENRIQUES; COZZOLINO, 2007).

Na escolha da fonte de ferro para fortificar um produto alimentício, deve-se considerar também a influencia do ferro adicionado nas propriedades sensoriais dos produtos, para que sejam garantidas sua ingestão e biodisponibilidade. Neste contexto, o sulfato ferroso mostra-se muito interessante para fins tecnológicos, uma vez que apresenta 100% de biodisponibilidade relativa no homem e geralmente é

adicionado em formulações infantis, bolos, biscoitos e macarrão (HALLBERG; ASP, 1996).

A recomendação diária de ferro adotada pelo Instituto de Medicina, IOM, dos Estados Unidos da América, bem como a recomendação proposta pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (BRASIL, 2005) estão contidas na Tabela 1.2.

**TABELA 1.2- VALOR DIÁRIO RECOMENDADO DE INGESTÃO (VDR)
DE REFERÊNCIA DE FERRO SEGUNDO IOM E ANVISA**

ESTAGIO DA VIDA	VDR IOM* (MG/DIA)	VDR ANVISA** (MG/DIA)
CRIANCAS		
ATÉ 12 MESES	6,9	0,27
1-3 ANOS	7,0	6,0
4-8 ANOS	10,0	6,0
MENINOS		
9-13 ANOS	8,0	9,0
14-18 ANOS	11,0	--
MENINAS		
9-13 ANOS	8,0	9,0
14-18 ANOS	15,0	14,0
HOMENS		
19-70 ANOS	8,0	14,0
MULHERES		
19-30 ANOS	18,0	--
31-50 ANOS	18,0	--
51-70 ANOS	8,0	--
GRAVIDEZ		
ATE 18 ANOS	10,0	27,0
19-50 ANOS	9,0	27,0

FONTE: *IOM (2001) ** ANVISA (2005) --- não especificado

1.12 ANÁLISE SENSORIAL

Existem análises que contribuem para com o desenvolvimento de novos produtos, como a análise sensorial. Este é um campo muito importante na indústria de alimentos, pois contribui direta ou indiretamente na reformulação e redução de custos de produtos, controle de qualidade, relações entre condições de processo, ingredientes, aspectos analíticos e sensoriais (DUTCOSKY, 2007).

A indústria alimentícia tem como ferramenta a análise sensorial de seus produtos, já que através deste instrumento é possível (MONTEIRO, 1984):

- avaliar e selecionar as melhores matérias primas;
- estudar a estabilidade de produtos durante o armazenamento;
- avaliar a qualidade do produto;
- estudar o efeito de diferentes processos tecnológicos;
- correlacionar análise físico-química;
- estudar a percepção humana frente aos atributos de um alimento;
- avaliar a reação dos consumidores frente ao produto;
- determinar a vida útil do produto e,
- inspecionar o produto acabado antes, durante e depois do envase ou acondicionamento

A análise sensorial deve ser aplicada durante o desenvolvimento de um produto, pois se torna necessária a sua caracterização sensorial, verificar e adequar formulações bem como quantificar a aceitação do produto final pelo público alvo.

Na avaliação de atributos dos produtos alimentícios utilizam-se escalas, que determinam a intensidade de cada característica intrínseca do alimento presente na amostra. A fundamentação nestes testes é de criar uma impressão de continuidade na faixa de variação de algum atributo específico que contribua para a qualidade sensorial do produto. Nesta a avaliação utiliza-se de metodologia apropriada e auxílio do tratamento estatístico para os dados experimentais (FERREIRA, 2002).

1.12.1 Análise sensorial de produtos funcionais

Até a primeira metade da década de 90, os produtos com extrato hidrossolúvel de soja como sucos e sorvetes possuíam baixa aceitação sensorial devido ao sabor desagradável. Entretanto, desde aquela época, a indústria nacional tem feito uso de novas tecnologias como a genética e uso de ingredientes mais eficientes na obtenção de produtos que apresentem melhor qualidade sensorial (BEHRENS; ROIG; SILVA, 2004) e atualmente observa-se que produtos contendo soja e seus derivados estão sendo mais aceitos pelos consumidores (CHEN; WEINGARTNER; BREWER, 2003).

O sucesso comercial de produtos prebióticos, vegetarianos e afins depende do sabor e da aparência vista pelo consumidor. O impacto sensorial da adição de fibras com potencial prebiótico em alimentos como sorvete, iogurtes, biscoitos e bebidas não são muito considerados no desenvolvimento de produtos, apesar de sua importância. Entretanto, tem sido observado que produtos adicionados de fibras prebióticas possuem alto índice de aceitação, além de notas satisfatórias de textura, sabor e aparência quando comparados com as formulações controle (sem adição de fibras) (DUTCOSKY *et al.*, 2006; CARDARELLI *et al.*, 2008).

As pesquisas científicas mostram que alimentos à base de EHS possuem boa aceitação sensorial: iogurtes de soja fermentados com culturas mistas de bactérias ácido-láticas apresentaram escores elevados de aparência, consistência e sabor, com índice de aceitação médio de 82,5% (MARINHO; WANG; CARVALHO, 1994). A emulsão fermentada com EHS adoçada com açúcar refinado e adicionado de ferro apresentou índice de aceitação acima de 70% (UMBELINO; CARDELLO; ROSSI, 2001). O fermentado à base de EHS com *Bifidobacterium* mostrou aceitabilidade superior ao fermentado com *L. casei* com base láctea, mostrando que os produtos desenvolvidos com soja muitas vezes apresentam sabor e odor satisfatórios (SHIMAKAWA *et al.*, 2003). A emulsão adicionada de EHS, sem adição de açúcares, suplementado com oligofrutose e inulina apresentou índice de aceitação acima de 70% (HAULY; FUCHS; PRUDENCIO-FERREIRA, 2005) e a bebida à base de EHS fermentada com *L. acidophilus*, adoçada com açúcar refinado e adicionada de polpa de pêssego apresentou 80% de índice de aceitação (BARBOSA, 2007).

Como observado, produtos à base de EHS em combinação com sucos e polpas de frutas têm obtido êxito na manutenção das propriedades sensoriais, bem como uma maior demanda desses produtos indica que os consumidores incorporaram tais produtos em seus hábitos alimentares, mudando sua atitude em relação aos produtos com soja.

1.13 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitos são os alimentos funcionais que são elaborados e testados *in vivo* e *in vitro* para avaliar sua eficácia, entretanto é necessário investimento por parte da indústria e por instituições governamentais para se estudar novas fontes de alimentos que possam agradar o consumidor e trazer um benefício fisiológico. Em especial, alimentos sem base láctea elaborados com co-produtos da soja devem ser estudados e avaliados cuidadosamente para que obtenham sucesso no mercado não apenas entre os intolerantes à lactose, mas também pelas pessoas que desejam consumir produtos sem colesterol. Para alcançar tal objetivo, estudos físico-químicos, bioquímicos, microbiológicos e sensoriais devem ser conduzidos para dar suporte ao desenvolvimento de tais alimentos.

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO DE SOJA E GOIABA: PROCESSAMENTO,
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E CROMÁTICA**

RESUMO

Poucas emulsões do tipo sobremesas, comercializadas no Brasil, são destituídas de lactose. Portanto, a elaboração de tais produtos é significativa no intuito de oferecer novas opções aos intolerantes. Neste sentido, a caracterização físico-química e colorimétrica é uma maneira de se avaliar a qualidade e manter controle sobre o processo de elaboração de alimentos. Assim, a metodologia de superfície de resposta foi utilizada para avaliar os parâmetros físico-químicos e cromáticos de emulsões contendo proteína de soja, suco de goiaba e oligofrutose. Os parâmetros analisados foram: atividade de água, coordenadas de cor instrumental a^* (vermelho), b^* (amarelo), L^* (luminosidade), C^* (cromaticidade) e h^* (tonalidade), pH, ferro e teor de carotenóides. As variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Hartley e ANOVA univariada, e as médias submetidas ao teste de Tukey. Observou-se que o suco de goiaba foi responsável pelos valores elevados de cor vermelha, tonalidade de cor, cromaticidade, carotenóides e acidez, ao passo que o extrato de soja diminuiu significativamente ($p < 0,001$) a atividade de água e aumentou o teor de ferro nas amostras. Os modelos de regressão foram significativos ($p < 0,05$), não apresentaram falta de ajuste ($p > 0,05$) e os coeficientes de determinação ajustados aos dados experimentais variaram de 74,81 a 99,46%, podendo-se considerar as equações matemáticas adequadas para fins preditivos. O ponto utilizado para se alcançar as características otimizadas foi obtido misturando 32% de suco de goiaba e 1,17% de proteína de soja. Essa amostra pôde ser considerada fonte de fibras dietéticas, ácido ascórbico, magnésio, cobre, e ferro.

Palavras-chave: *Psidium guajava*. Colorimetria. Prebióticos. Alimentos funcionais.

ABSTRACT

Few emulsions marketed in Brazil are suppressed of lactose. Hence, the development of such products is necessary in order to offer new options for the intolerants. IN this regard, the physicochemical and chromatic characterization of foods is a suitable tool to evaluate its quality and to control its industrial production. So, in this research, the response surface methodology was applied to evaluate the physicochemical and chromatic features of emulsions containing soy protein, guava juice and oligofructose. The parameters analyzed were: water activity, instrumental color based on the coordinates a^* (redness), b^* (yellowness), L^* (lightness), C^* (chromaticity) and h^* (hue angle), acidity, pH and content of iron and carotenoids. The variances of the treatments were checked for homogeneity using the Hartley's test and one-way ANOVA, whereas the means were compared by the Tukey's test at 5% of probability. To evaluate the combined effect of the independent variables on the responses, the response surface methodology was employed. The analyses of the results showed that guava juice was responsible for the high measured values of red color, hue angle, chromaticity, carotenoids and acidity, whereas soy soluble extract was the component that increased iron content and reduced the water activity of the trials. The regression models were remarkably significant ($p < 0.05$), did not present lack of fit ($p > 0.05$) and the determination coefficients ranged from 74.81 to 99.46%, aiming to consider the equations suitable for prediction purposes. The point to obtain optimum physicochemical and colorimetric features was achieved by mixing 32% of guava juice and 1.17% of soy protein. This sample could be considered source of dietary fibers, ascorbic acid, magnesium, copper and iron.

Keywords: *Psidium guajava*. Colorimetry. Prebiotics. Functional food.

CAPÍTULO 2

2 DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO DE SOJA E GOIABA: PROCESSAMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E CROMÁTICA

2.1 INTRODUÇÃO

Atualmente, os alimentos não são destinados apenas para satisfazer paladares e prover nutrientes, mas também para prevenir doenças e para melhorar o estado físico, metabólico e mental dos consumidores (KOTILAINE *et al.*, 2006). Neste sentido, os alimentos funcionais desempenham um papel importante. Os avanços na compreensão da relação entre nutrição e saúde resultaram no desenvolvimento do conceito de alimentos funcionais, que significa uma tendência nova e prática para atingir status ótimo de saúde por melhorar o bem-estar e possivelmente reduzir o risco de doenças (RODRÍGUEZ; MEGÍAS; BAENA, 2003; SAAD *et al.*, 2006; SIRO *et al.*, 2008).

Até o presente, muitos conceitos foram propostos por autoridades, membros da academia e pela indústria a fim de definirem o termo *alimento funcional*, tais como os exemplos citados pelo Departamento de Administração de Medicamentos e Alimentos dos Estados Unidos (FDA, 2004) e Jew e Jones (2007): ‘alimentos que podem fornecer benefícios à saúde além de desempenhar função nutricional’ e alimento similar ao convencional destinado ao consumo regular, entretanto, foram modificados para melhorar os papéis fisiológicos, além de serem nutrientes simples’.

Definições a parte, o mercado para esse tipo de produto é crescente e com receita na casa dos bilhões anuais. De fato, o mercado mundial dos alimentos funcionais, em 2000, gerou US\$ 33 bilhões, em 2005 US\$ 73,5 bilhões (JUSTFOOD, 2006), sendo que em 2006 nos Estados Unidos o mercado alcançou um valor de US\$ 21,3 bilhões e na Europa US\$ 8,0 bilhões, com potencial de crescimento de 10% ao ano (LANE, 2007). Estes alimentos contêm naturalmente, ou são elaborados com compostos bioativos como fibras com propriedades prebióticas, oligossacarídeos, e mesmo microrganismos probióticos que equilibram a microbiota

intestinal, proporcionando manutenção da saúde corporal (BECH-LARSEN; GRUNERT, 2003).

Com relação ao desenvolvimento de alimentos funcionais, tem sido observado que poucas emulsões comercializadas no Brasil como sobremesas são destituídas de lactose. Portanto, a elaboração de tais produtos é necessária no intuito de oferecer novas opções para os intolerantes. A prevalência de intolerância à lactose no México é de 55%, em países hispânicos a incidência chega a 80% e na China quase 95% da população é afetada (ALM, 2002). Neste contexto, produtos com base de vegetais como a soja têm sido indicados como bons substitutos para o leite bovino na dieta (POTTER *et al.*, 2007). O extrato hidrossolúvel de soja, mais conhecido como 'leite de soja', possui quantidade apreciável de proteína, bom perfil de aminoácidos (IWE *et al.*, 2001), alta concentração de fibras, magnésio, fósforo, riboflavina, tiamina, ácido fólico (USDA, 2003) e isoflavonóides com atividades fisiológicas comprovadas (WANG; YU; SHOU, 2006).

A goiaba vermelha (*Psidium guajava* L.) é fonte de fibras solúveis, ácido ascórbico, flavonóides bioativos e carotenóides, especialmente o licopeno (YAN; TENG; JHI, 2006; RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN; KIMURA, 2007), que possui propriedades antioxidantes e anticolesterêmicas (HEBER; LU, 2003). Devido aos seus benefícios à saúde quando ingerida de forma crônica (ALLIET *et al.*, 2007; BOSSCHER; LOO; FRANCK, 2007), a oligofrutose tem sido adicionada em muitos alimentos como queijo *petit-suisse*, biscoitos, fórmulas infantis, barras de cereais, sobremesas congeladas, leite, iogurtes e emulsões lácteas (GALLAGHER *et al.*, 2003; BOSSCHER *et al.*, 2003; CARDARELLI *et al.*, 2008). Portanto, o desenvolvimento de alimentos combinando soja, goiaba vermelha e oligofrutose parece ser uma maneira conveniente de incorporar proteína de soja, fibras dietéticas, minerais e carotenóides na dieta convencional.

Na literatura, é muito comum encontrar pesquisadores aplicarem a metodologia univariada de determinar as condições otimizadas para se desenvolver produtos, variando apenas uma das condições e mantendo as outras em um nível constante. Entretanto, esta metodologia é laboriosa e geralmente falha na garantia da determinação das condições ótimas reais (BOX; DRAPPER, 1987). No intuito de superar esses problemas, estudos envolvendo a otimização de processos e produtos têm sido conduzidos utilizando a metodologia de superfície-resposta (MSR), uma técnica baseada na estatística em que vários fatores podem ser

variados simultaneamente (MYERS; MONTGOMERY, 2002). A MSR é uma técnica estatística que pode ser utilizada para melhorar e otimizar processos complexos nas indústrias de alimentos, química, etc. (BAS; BOYACI, 2007), e pode ser usada para definir a relação entre as respostas e variáveis independentes utilizadas no estudo, definindo seus efeitos sozinhos ou combinados nos processos e, assim, torna-se uma ferramenta muito importante na indústria (FAN *et al.*, 2008). Com a MSR, muitas variáveis são testadas com o mínimo de testes, de acordo com o delineamento experimental utilizado. Além disso, a MSR tem a vantagem de utilizar menos reagentes, matéria-prima, e menos recursos do que os métodos clássicos univariados (YI *et al.*, 2009).

Pesquisadores têm provado que as opiniões negativas em relação aos alimentos contendo soja estão mudando devido ao uso de diferentes matérias-primas que melhoram o sabor, aroma e aparência global dos produtos (CHEN; WEINGARTNER; BREWER, 2003; BEHRENS; ROIG; SILVA, 2004; POTTER *et al.*, 2007; DESHPANDE; CHINNAN; McWATTERS, 2008). Não obstante, não há registros na literatura sobre o desenvolvimento de emulsão utilizando suco de goiaba e proteína de soja. Portanto, os objetivos deste trabalho foram desenvolver e avaliar o efeito das concentrações de proteína de soja e suco de goiaba vermelha nas características físico-químicas e cromáticas de emulsões, bem como otimizar o experimento por meio da MSR.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material

As matérias-primas empregadas neste estudo foram o extrato hidrossolúvel de soja (44% proteína), sacarose comercial, sulfato ferroso padrão alimentar, mistura de emulsificantes (mistura comercial: polisorbato 60, monoglicerídeos destilados e monoesterato sorbitano), goma guar e carboximetilcelulose (1:1), aroma idêntico ao natural de goiaba, creme de soja (18,67% lipídeos totais), oligofrutose (95% pureza), suco de goiaba em pó, suco concentrado de goiaba vermelha (45% polpa).

2.2.2 Delineamento experimental

A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para estimar os efeitos das variáveis independentes (x_i) nas respostas (y_i). Utilizou-se o delineamento fatorial completo (3^2), com adição de três pontos centrais (C) (BOX; DRAPPER, 1987), totalizando 12 experimentos. Suco de goiaba vermelha (SG) e proteína de soja (PS) foram as variáveis independentes estudadas em três níveis diferentes. As matrizes codificadas (-1, 0, +1) e decodificadas para os fatores estão na Tabela 2.1.

TABELA 2.1- DELINEAMENTO FATORIAL COMPLETO (3^2) APLICADO AO DESENVOLVIMENTO DAS EMULSÕES À BASE DE SOJA E SUCO DE GOIABA VERMELHA

AMOSTRAS	VARIÁVEIS INDEPENDENTES		MATRIZ DECODIFICADA	
	SG	PS	SG (%)	PS (%)
1	-1,00	-1,00	22	1,00
2	-1,00	0,00	22	2,00
3	-1,00	1,00	22	3,00
4	0,00	-1,00	27	1,00
5	0,00	0,00	27	2,00
6	0,00	1,00	27	3,00
7	1,00	-1,00	32	1,00
8	1,00	0,00	32	2,00
9	1,00	1,00	32	3,00
10 (C)	0,00	0,00	27	2,00
11 (C)	0,00	0,00	27	2,00
12 (C)	0,00	0,00	27	2,00

NOTA: SG= suco de goiaba; PS= proteína de soja; (C)= ponto central

Os experimentos foram conduzidos de forma aleatória para minimizar o efeito de variabilidade nas respostas oriundas de erros sistemáticos. Suco de goiaba variou de 22% (m/m) a 32% (m/m) enquanto que proteína de soja variou entre 1% (m/m) a 3% (m/m). O estabelecimento desta faixa de variação baseou-se em experimentos preliminares.

2.2.3 Preparo das amostras

Para a produção das amostras estudadas nesta pesquisa foi utilizado o fluxograma da Figura 2.1.

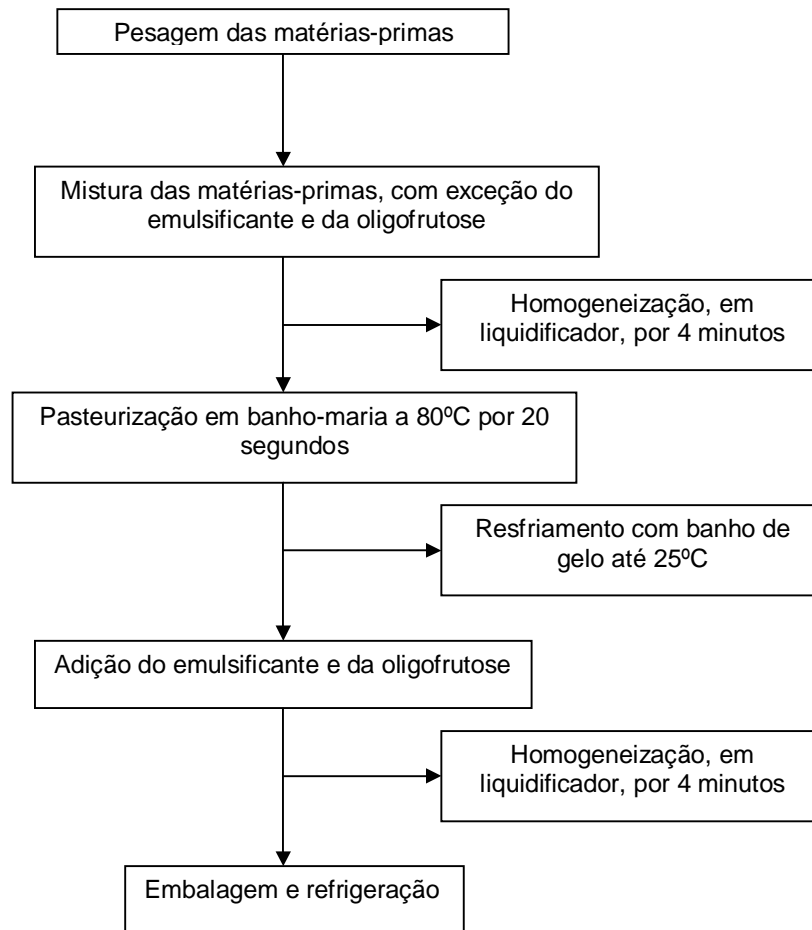


FIGURA 2.1 – FLUXOGRAMA DE DESENVOLVIMENTO DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES DE GOIABA E SOJA, COM ADIÇÃO DE FERRO E OLIGOFRUTOSE.

Primeiramente todos os ingredientes foram pesados e misturados por 4 minutos em liquidificador comercial, com exceção do emulsificante e da oligofrutose. A massa foi pasteurizada a 80°C, em banho-maria, por 20 segundos, sendo então resfriada em banho de gelo até 25°C (ANDREASEN; NIELSEN, 1998). A oligofrutose e o emulsificante foram misturados à massa e então mais uma homogeneização com liquidificador, por 4 minutos, foi conduzida. Os produtos foram embalados em potes de vidros, previamente esterilizados em autoclave (120°C, 15 minutos), e então colocados em refrigeração a $7 \pm 1^\circ\text{C}$. Os ingredientes e as respectivas quantidades empregadas para a produção das 12 amostras de emulsão estão descritas na Tabela 2.2. Oligofrutose foi adicionada na concentração de 2,5% (m/m) em todas as amostras, uma vez que a legislação brasileira considera um alimento fonte de fibras aquele que contem, no mínimo, 1,5% fibras em alimentos líquidos e

3,0% em sólidos, sendo assim adotou-se o valor de 2,5% neste trabalho (BRASIL, 1998).

TABELA 2.2- INGREDIENTES E RESPECTIVAS QUANTIDADES (g/100 g) EMPREGADAS PARA A PRODUÇÃO DAS EMULSÕES

MATÉRIA-PRIMA	BASE COM 1% PROTEÍNA	BASE COM 2% PROTEÍNA	BASE COM 3% PROTEÍNA
EHS ¹	2,50	5,00	7,50
Creme de soja	40,00	40,00	40,00
Água mineral	(100 – x – demais ingredientes)	(100 – x – demais ingredientes)	(100 – x – demais ingredientes)
Suco de goiaba (x) ²	X	X	X
Sulfato ferroso	0,010425	0,010425	0,010425
Sacarose	14,00	14,00	14,00
Aroma de goiaba	0,15	0,15	0,15
Carragena e CMC ³	1,00	1,00	0,75
Emulsificantes	1,00	1,00	0,75
Suco goiaba em pó	2,10	2,10	2,10
Oligofrutose ⁴	2,63	2,63	2,63
Total (%)	100,00	100,00	100,00

NOTA: ¹Conteúdo protéico (44%); ²Suco de goiaba variou de 22 a 32%; ³carboximetilcelulose; ⁴95% de pureza.

2.2.4 Análises físico-químicas

2.2.4.1 Determinação de acidez titulável

A acidez titulável, em termos de ácido cítrico, foi determinada em triplicata por titulação com solução NaOH 0,1N, utilizando fenolftaleína a 1% como indicador de viragem, de acordo com método 016/IV do Instituto Adolf Lutz (IAL, 2005).

2.2.4.2 Determinação de pH

O pH das amostras foi determinado seguindo a metodologia analítica da AOAC (2005), em triplicata, utilizando um pHmetro Orion (Modelo 250A/610, Fisher Scientific Instruments, Pittsburgh, PA, EUA) com prévia calibração com soluções tampão padrões pH = 4 e pH = 7, conforme método 017/IV do IAL (2005).

2.2.4.3 Quantificação de minerais

Toda a etapa de preparação de amostras e quantificação dos minerais foi realizada nos laboratórios do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA – Curitiba, PR). O teor de ferro de todas as emulsões foi quantificado, ao passo que a amostra otimizada pela MSR também foi caracterizada pelo teor de cálcio, magnésio, manganês, sódio, potássio, zinco e cobre. Primeiramente, a amostra foi carbonizada de acordo com os procedimentos preconizados pelo método 393/IV do IAL (2005). A etapa de quantificação dos minerais foi efetuada em espectrofotômetro de absorção atômica (modelo SpectrAA-200, Varian, Mulgrave, VC, Austrália) com operação manual de injeção das amostras e utilização de ar/acetileno. O fósforo foi quantificado pela técnica de espectrofotometria molecular UV-VIS (Modelo UV-1601, Shimadzu, Kioto, Japão) preparando-se curvas de calibração, em gradiente crescente de concentração, com substância padrão segundo metodologia proposta pela AOAC (2005).

Para a etapa de quantificação, foram utilizadas as condições de operação do espectrofotômetro de absorção atômica e espectrofotômetro de UV-VIS mostradas na Tabela 2.3. Foram preparadas curvas analíticas, com cinco pontos cada, a partir de soluções padrões de cada elemento químico, em solução de ácido nítrico 5%, em ordem crescente de concentração.

TABELA 2.3- CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO ESPECTRÔMETRO DE ABSORÇÃO ATÔMICA E DO ESPECTROFOTÔMETRO UV-VIS.

MINERAL	λ (nm)	CORRENTE (mA)	FENDA (nm)	CURVA DE CALIBRAÇÃO	R ²	LD ¹
Ca	422,7	10	0,5	$Y = 0,312X + 0,014$	0,9996	0,01
Na	589	5	0,1	$Y = 0,00533X + 0,826$	0,9969	0,002
P	650	--	--	$Y = 376,5X + 0,0088$	0,9991	0,10
Fe	372	5	0,1	$Y = 0,077X + 0,057$	0,9998	0,05
K	766,5	5	0,1	$Y = 0,00523X + 0,842$	0,9999	0,03
Mg	282,2	4	0,1	$Y = 1,046X + 0,0042$	0,9958	0,003
Zn	213,9	5	0,1	$Y = 0,215X + 0,0205$	0,9702	0,05
Cu	327,4	4	0,1	$Y = 0,146X + 0,030$	0,9957	0,05
Mn	257,6	5	0,1	$Y = 0,211X + 0,021$	0,9992	0,40

NOTA: ¹LD=Limite de detecção (mg/kg); -- =não aplicável.

Nas análises dos teores de minerais por espectrometria de absorção atômica, cada leitura foi realizada três vezes pelo aparelho e a média computada como resultado final, para cada replicata. Todas as quantificações dos minerais foram realizadas em triplicata, sendo o resultado expresso pela média \pm desvio padrão entre as análises. O conteúdo de minerais foi calculado por porção (100 g) para a avaliação da adequação em relação aos valores diários recomendados (VDR) por meio da RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005).

2.2.4.4 Quantificação de carotenóides totais

A preparação das amostras para quantificação dos carotenóides totais baseou-se nos métodos preconizados por Rodriguez-Amaya (2001). Os pigmentos foram extraídos com acetona utilizando-se um homogeneizador, tipo liquidificador industrial (aço inox), seguindo-se de cinco filtrações a vácuo em funil de Büchner até descoloração total das amostras. O extrato obtido em acetona (contendo os pigmentos) foi submetido à partição em éter de petróleo:água, sendo lavado com água destilada para eliminação da acetona, e seco com sulfato de sódio anidro para retirar água. Para hidrólise dos ésteres, a fase etérea foi submetida à saponificação com uma solução metanólica de KOH a 10% com adição de antioxidante BHT 1% durante 14 horas, em repouso no escuro, à temperatura ambiente. O extrato obtido foi lavado com água destilada até pH neutro, seco e então concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida a 35°C.

Carotenóides totais foram quantificados por espectrofotometria na região do ultravioleta-visível, utilizando coeficiente de extinção 2500 cm⁻¹ em éter de petróleo e leitura da absorbância no comprimento de 502 nm (FISH; VEAZIE; COLLINS, 2002). A detecção de licopeno foi efetuada por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel HF-254 (Merck, Alemanha) eluídas com solução de 5% de metanol em tolueno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

2.2.4.5 Avaliação cromática

A cor instrumental das emulsões foi determinada em espectrofotômetro portátil (modelo D25L2, Hunter Assoc. Laboratory, Reston, VA, USA) com iluminante

D65 e ângulo 10°, através dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* e b^* (coordenadas de cromaticidade). Quanto às coordenadas de cromaticidade, $+a^*$ está na direção do vermelho, $-a^*$ está na direção do verde, $+b^*$ está na direção do amarelo e $-b^*$ está na direção do azul como mostra a Figura 2.2. O centro é acromático, à medida que os valores de a^* e b^* aumentam e o ponto move-se para fora partindo do centro, a saturação da cor aumenta (MARTIN *et al.*, 2007).

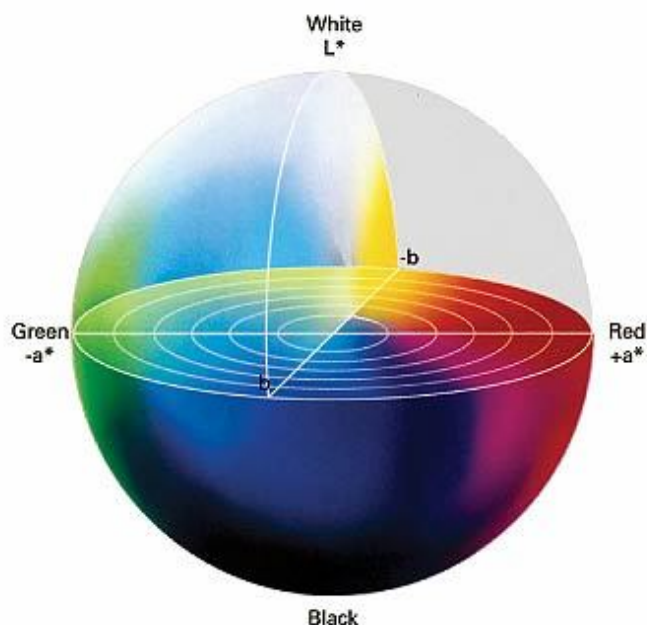


FIGURA 2.2- REPRESENTAÇÃO DO SISTEMA DE COORDENADAS CIELAB PARA AVALIAÇÃO DE COR INSTRUMENTAL.

FONTE: MARTIN *et al.* (2007)

O parâmetro Croma (C^*), que indica a cromaticidade ou intensidade de cor da amostra, também foi determinado a partir dos resultados dos atributos a^* e b^* , através da Equação 2.1:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (2.1)$$

Ângulo *hue* (h^*), indicador de tonalidade, é o terceiro mais importante atributo de cor seguido da luminosidade e cromaticidade. Os valores de tonalidade foram obtidos pela Equação 2.2:

$$h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (2.2)$$

Previamente às análises, o equipamento foi calibrado utilizando placas de cerâmica na cor preta e branca ($X = 78,9$, $Y = 83,9$, $Z = 88,9$) para então o espectro de intensidade das amostras pudesse ser medido. A medida dos parâmetros de cor foi conduzida seis vezes para cada amostra.

2.2.4.6 Atividade de água (A_w)

As medições de atividade de água das emulsões a 20°C foram conduzidas quatro vezes, em higrômetro (Decagon Devices, Aqua Lab Model Series 3TE, Pullman, WA, EUA) previamente calibrado com solução de cloreto de lítio.

2.2.4.7 Fibras e ácido ascórbico

A amostra otimizada foi avaliada também com relação ao seu conteúdo de ácido ascórbico e fibras alimentares. Ácido ascórbico foi determinado por titulação com solução padronizada de iodato de potássio, de acordo o método 364/IV do Instituto Adolf Lutz (2005), enquanto que fibras alimentares foram determinadas pelo método enzimático gravimétrico sob número 045/IV (IAL, 2005).

2.2.5 Análises estatísticas

Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Hartley ($\alpha = 0,01$). As médias dos tratamentos testadas por meio da análise de variância univariada e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para avaliar o efeito combinado das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes (y_i) empregou-se a metodologia de superfície de resposta, que pode ser genericamente escrita como: $y_i = f(x_1, x_2, x_3)$. A Equação 2.3 foi utilizada para ajustar os dados:

$$E(y) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad (2.3)$$

onde $E(y)$ é a resposta avaliada, β_0 é uma constante, β_1 , β_2 , β_{11} , β_{22} e β_{12} são os coeficientes de regressão e x_1 , x_2 são os níveis das variáveis independentes (MYERS; MONTGOMERY, 2002). Os termos que não foram significativos ($p > 0,05$) foram rejeitados e eliminados do modelo, sendo então os resultados novamente reajustados para se obter apenas termos significantes ($p < 0,05$) e então a Equação reduzida foi obtida. Correlações de Pearson (r), que determinam a força de interligação entre dois conjuntos de dados, foram calculadas para avaliação do nível de associação entre as variáveis.

As médias dos dados físico-químicos e cromáticos dos 12 tratamentos foram tratadas por análise de regressão linear múltipla. A análise de variância, associada ao teste F, foi aplicada para testar a adequação dos modelos, a falta de ajuste em relação a 95% de confiança e para calcular o coeficiente de determinação ajustado (R^2_{adj}). Para visualizar o efeito das variáveis independentes sobre as respostas foram traçados gráficos bidimensionais com o *software* Statistica 7.1.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Parâmetros físico-químicos

Os resultados dos parâmetros físico-químicos das emulsões, expressos pela média entre as replicatas, estão na Tabela 2.4. Com exceção do teor de ferro ($p = 0,69$), os valores de pH, acidez titulável, carotenóides e atividade de água apresentaram diferença estatística ($p < 0,001$), sugerindo que diferentes concentrações de suco de goiaba e extrato de soja modificaram as propriedades físico-químicas das amostras.

TABELA 2.4- ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DAS EMULSÕES DE SOJA E SUCO DE GOIABA.

AMOSTRAS	NÍVEIS		pH	AW	ACIDEZ ¹	FERRO ²	CAROTENÓIDES ³
	SG (%)	PS (%)					
1	22	1,00	4,47 ^e	0,979 ^b	0,461 ^c	2,00	1153,30 ^b
2	22	2,00	4,82 ^c	0,974 ^{d,f}	0,485 ^b	2,08	1169,91 ^b
3	22	3,00	4,98 ^a	0,971 ^{e,f}	0,453 ^c	2,12	1190,14 ^b
4	27	1,00	4,42 ^e	0,986 ^a	0,500 ^{a,b}	2,08	1351,94 ^{a,b}
5	27	2,00	4,75 ^d	0,978 ^{b,c}	0,488 ^b	2,10	1372,19 ^{a,b}
6	27	3,00	4,93 ^{a,b}	0,972 ^e	0,487 ^b	2,15	1390,32 ^{a,b}
7	32	1,00	4,34 ^f	0,985 ^a	0,500 ^{a,b}	2,08	1351,90 ^{a,b}
8	32	2,00	4,70 ^d	0,983 ^a	0,515 ^a	2,11	1570,45 ^a
9	32	3,00	4,88 ^b	0,979 ^{b,c}	0,507 ^a	2,16	1589,63 ^a
10 (C)	27	2,00	4,72 ^d	0,976 ^{b,c,d}	0,487 ^b	2,10	1371,07 ^{a,b}
11 (C)	27	2,00	4,74 ^d	0,976 ^{c,d}	0,499 ^{a,b}	2,10	1337,14 ^{a,b}
12 (C)	27	2,00	4,73 ^d	0,976 ^{b,c,d}	0,497 ^{a,b}	2,11	1372,10 ^{a,b}
DPC ⁴			0,20	0,05	0,02	0,08	161,67
p (Hartley)			0,22	0,82	0,02	0,86	1,00
p (ANOVA)			<0,001	<0,001	<0,001	0,69	<0,001

NOTA: ¹Expressa em % ácido cítrico; ²Expresso em mg/100 g; ³Expresso em µg/100 g; ⁴Desvio padrão conjunto ($n = 3$); SG= suco de goiaba; PS= proteína de soja; Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apesar de não haver diferença estatística significativa estatisticamente, as amostras 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11 e 12 apresentaram teor de ferro igual ou acima de 2,10 mg/100 g, o que implica dizer que são fontes do mineral, de acordo com a RDC n° 269 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005)

Alimentos que contenham quantidades expressivas de ferro são necessários, especialmente em países em desenvolvimento, onde a deficiência desse elemento é a desordem nutricional mais freqüente (WHO, 2008). Sendo assim, fortificação de alimentos pode ser uma maneira eficiente e barata para prevenir tal desordem nutricional. No Brasil, emulsões em forma de sobremesa não-lácteas não possuem quantidades suficientes de ferro na porção comercializada (TACO, 2006). Essa tendência também é observada em países desenvolvidos como os Estados Unidos da América, que possui uma grande variedade de sobremesas não-lácteas no mercado, porém o teor de ferro presente nesses alimentos é baixo: sobremesa de soja e chocolate (0,83 mg/100 g), sobremesa de soja e baunilha (0,14 mg/100 g) e *sherbet* de soja e laranja (0,13 mg/100 g) (USDA, 2003). Como pode ser observado, a fortificação de alimentos, especialmente em produtos vegetarianos à base de soja é desejável para aumentar o seu valor nutricional.

O teor de carotenóides variou de 1.153,30 a 1.589,63 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ e o maior responsável pela incorporação desses compostos foi o suco de goiaba vermelha, como é mostrado na Figura 2.3. Esta tendência também pode ser observada pelo coeficiente de correlação ($r = 0,547$, $p \geq 0,05$) quando a cromaticidade de cor instrumental foi positivamente associada ao teor de carotenóides presentes nas emulsões. Além de licopeno, suco de goiaba apresenta zeinoxantina, 5,8-epóxi- β -caroteno e β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN; KIMURA, 2007), compostos bioativos que têm sido estudados por diferentes protocolos por serem efetivos contra câncer de mama e próstata (WANG; RUSSEL, 1999; WILLIAMS *et al.*, 2000), por apresentarem efeitos antioxidantes *in vitro* e em modelos *in vivo* (RAO; SHEN, 2002), por diminuir a incidência de doenças coronarianas (LIDEBJER; LEANDERSON; JONASSON, 2007), por aumentarem a absorção de minerais, especialmente ferro (GARCÍA-CASAL, 2006), por oferecerem efeitos anti-inflamatórios e anti-coagulantes (YAPING *et al.*, 2003) e assim por diante.

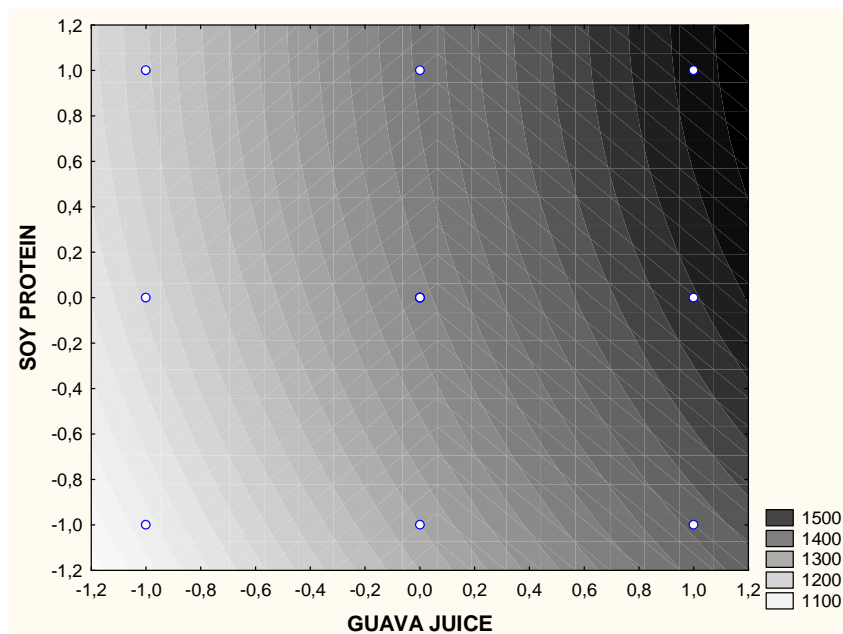


FIGURA 2.3- RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA NO TEOR DE CAROTENÓIDES DAS EMULSÕES.

Ziegler *et al.* (1996) recomendam uma ingestão diária de 4.000 μg de carotenóides, não excedendo 10.000 μg . De acordo com esse parâmetro, o consumo de uma porção de 100 gramas de emulsão desenvolvida neste trabalho forneceria, pelo menos, 28,83% da quantidade recomendada. Licopeno e dois outros carotenóides minoritários foram detectados por CCD quando as placas foram eluídas com metanol e tolueno, mostrando que mesmo após tratamento térmico, os carotenóides estavam presentes nas emulsões. Este resultado corrobora o trabalho de Nicoli, Anese e Parpinel (1999) e Hadley *et al.* (2000) que provaram que alguns carotenóides como o licopeno e o β -caroteno são muito estáveis aos tratamentos térmicos a altas temperaturas ou por tempos prolongados como é o caso da pasteurização.

O licopeno é um pigmento encontrado em grandes quantidades no tomate, mamão, melancia e goiabas vermelhas (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN; KIMURA, 2007), sendo um bom seqüestrador de oxigênio *singlet*, responsável pela ativação de muitas reações de oxi-redução nas células humanas que liberam radicais livres. Assim, o licopeno possui ação protetora contra essas moléculas altamente instáveis produzidas no corpo (RAO; SHEN, 2002). O consumo diário de licopeno ainda é incerto e controverso, entretanto, Rao e Shen (2002) sugeriram que

o consumo deve ser de 300 µg para obter os efeitos de proteção celular e propriedades antioxidantes.

Quanto maior a quantidade de extrato de soja adicionado, maior valor de pH das emulsões (Figura 2.4). Isso se deve, principalmente, porque as proteínas de soja possuem um caráter básico. Em um alimento, as proteínas são arranjadas em uma cadeia linear conectadas por ligações peptídicas entre os grupos funcionais amino e carboxil, apresentando pH tendendo ao básico quando em solução e, portanto, quanto mais proteína de soja houvesse nas emulsões, maior o pH mensurado. Essa tendência pode ser observada, também, pela correlação entre a coordenada b^* (relacionada à concentração de EHS) e o pH ($r = 0,649$, $p < 0,05$). Ao contrário, o suco de goiaba, que contém naturalmente ácido cítrico e ascórbico, diminuiu significativamente o pH ($p < 0,001$) e aumentou a acidez ($p < 0,001$) das amostras, como pode ser observado pela correlação negativa entre a coordenada a^* e o pH ($r = -0,804$, $p < 0,05$). A coordenada de cromaticidade a^* representa a cor vermelha, que depende diretamente da quantidade de suco de goiaba adicionada e, portanto, os valores de pH estão negativamente correlacionados com a quantidade de suco de goiaba.

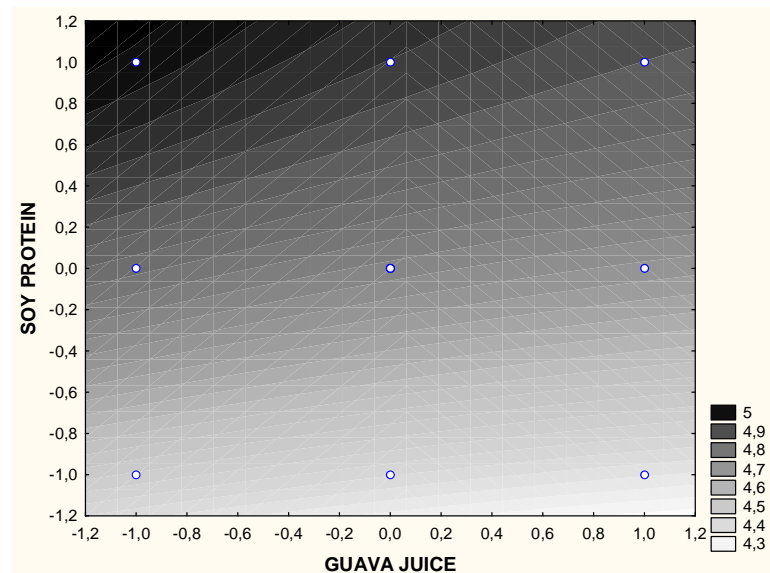


FIGURA 2.4- RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA NO PH DAS EMULSÕES.

Dyminsky et al. (2000) desenvolveram emulsões tipo mousse contendo creme de leite, 3% de proteína láctea e 30% de suco de maracujá, e apresentaram valores

de pH entre 4,20 e 4,80, resultados bastante semelhantes com os encontrados utilizando proteína e creme de soja, e suco de goiaba. Emulsões aeradas desenvolvidas com creme de leite, proteína láctea (4%) e sucos de goiaba e maracujá (25%) (BURITI; KOMATSU; SAAD, 2007) apresentaram valores superiores de pH (4,91 - 6,05) comparados às emulsões desenvolvidas na presente pesquisa.

A acidez titulável das amostras variou significativamente ($p < 0,001$) de 0,453 - 0,515% em ácido cítrico. Juntamente com baixos valores de pH, as emulsões apresentaram meio ácido, condição que não é favorável para o desenvolvimento de bactérias. Através da Figura 2.5, verificou-se que quanto maior a concentração de suco de goiaba, maior a acidez das amostras e essa está correlacionada com a coordenada a^* ($r = 0,473$, $p \geq 0,05$). Produtos com caráter ácido são desejáveis na indústria devido à estabilidade microbiológica que esses alimentos possuem (BIZRI; WAHEM, 1994). Rocha et al. (2005) desenvolveram emulsões tipo sobremesa com adição de várias polpas de frutas típicas do Nordeste, incluindo de goiaba vermelha, e verificaram que os valores de pH das amostras foram baixos (3,55 - 4,24) e a acidez variou de 0,420 - 0,850%, devido ao fato das sobremesas terem sofrido processo de fermentação ácido-láctica.

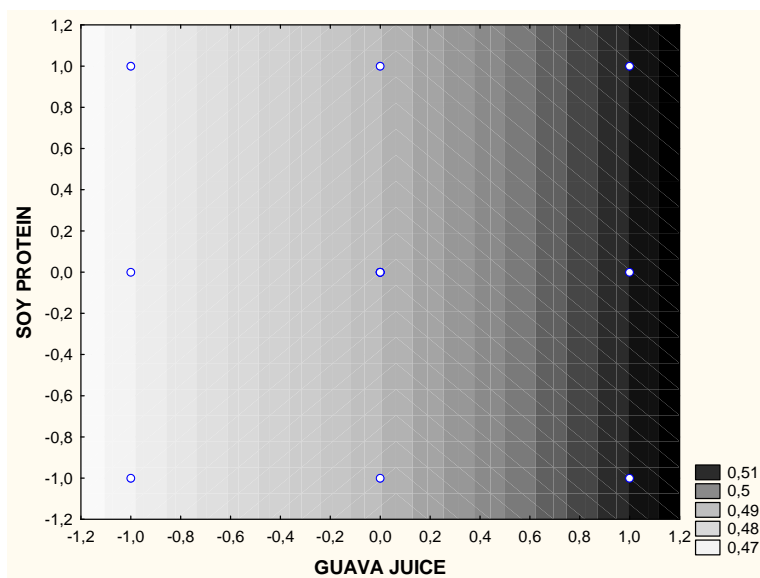


FIGURA 2.5- RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA NA ACIDEZ TITULÁVEL DAS EMULSÕES

A atividade de água, que indica quanto de água livre há no sistema, variou significativamente ($p < 0,001$) de 0,971 a 0,986, sendo que as emulsões contendo maior concentração de extrato de soja apresentaram menores valores desse parâmetro (Figura 2.6). Esta tendência pode ser observada claramente pela correlação positiva de Pearson entre a atividade de água e a coordenada a^* ($r = 0,925$, $p < 0,05$) e correlação negativa com a coordenada b^* ($r = -0,442$, $p \geq 0,05$), que representa a quantidade de proteína de soja.

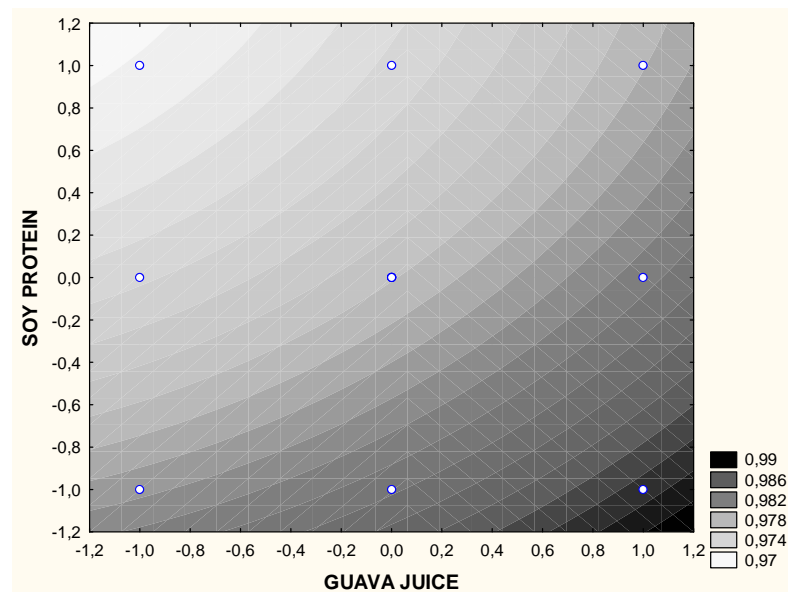


FIGURA 2.6- RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA NA ATIVIDADE DE ÁGUA DAS EMULSÕES

As formulações 2 (0,974), 3 (0,971) e 6 (0,972) apresentaram os menores valores de atividade de água. O extrato de soja contém proteínas, lipídeos e carboidratos que formam redes interligadas quimicamente com a água e os emulsificantes, fazendo com que a água livre no meio diminua. Em alimentos com valores acima de 0,900, soluções diluídas com nutrientes poderão ser formadas, propiciando substratos para os microorganismos se desenvolverem (BOBBIO; BOBBIO, 2001), portanto um controle rigoroso de pH e acidez devem ser realizados nos produtos elaborados para que não haja crescimento desordenado de bactérias, fungos e leveduras deteriorantes e não haja perda de qualidade nos produtos. A determinação da atividade de água é essencial na indústria alimentícia uma vez que tal parâmetro desempenha papel importante na avaliação da estabilidade bioquímica

e microbiológica de diversos tipos de alimentos e, assim, pode-se monitorar a qualidade do produto durante seu período de vida-de-prateleira (GABRIEL, 2008). A atividade de água de um alimento é, usualmente, analisada juntamente com os valores de pH e acidez, no intuito de avaliar a habilidade de microorganismos se desenvolverem no meio, sendo, portanto, uma análise imprescindível no controle de qualidade e na estimativa da vida-de-prateleira de alimentos (PHAM, 2001).

2.3.2 Cor instrumental

A Tabela 2.5 mostra que os resultados da cor instrumental apresentaram variâncias homogêneas ($p > 0,01$) e diferenças estatísticas significativas foram obtidas ($p < 0,001$) em todos os parâmetros cromáticos, assim, tanto o EHS quanto o suco de goiaba interfere na cor das emulsões.

TABELA 2.5- COR INSTRUMENTAL DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES

AMOSTRAS	NIVEIS		L^{*1}	a^{*2}	b^{*3}	C^{*4}	h^{*5}
	SG (%)	PS (%)					
1	22	1,00	77,65 ^{d,e}	12,46 ^e	14,66 ^h	19,21 ^g	1,21 ^c
2	22	2,00	79,60 ^a	11,33 ^g	14,95 ^f	18,76 ^h	1,15 ^h
3	22	3,00	78,59 ^b	11,28 ^g	16,09 ^b	19,62 ^e	1,12 ⁱ
4	27	1,00	77,29 ^f	13,90 ^b	14,82 ^g	20,31 ^c	1,27 ^b
5	27	2,00	78,45 ^c	11,89 ^f	15,84 ^c	19,69 ^e	1,19 ^e
6	27	3,00	77,65 ^{d,e}	10,74 ^h	16,26 ^a	19,48 ^f	1,10 ⁱ
7	32	1,00	76,51 ^g	14,60 ^a	15,26 ^e	21,12 ^a	1,28 ^a
8	32	2,00	76,11 ^h	13,02 ^c	15,47 ^d	20,22 ^{c,d}	1,20 ^d
9	32	3,00	75,74 ⁱ	12,99 ^c	15,88 ^c	20,54 ^b	1,19 ^f
10 (C)	27	2,00	77,84 ^d	12,78 ^d	15,49 ^d	20,08 ^d	1,15 ^h
11 (C)	27	2,00	78,14 ^c	11,94 ^f	15,51 ^d	19,57 ^e	1,19 ^f
12 (C)	27	2,00	77,54 ^{e,f}	11,88 ^f	14,58 ^h	18,81 ^h	1,16 ^g
DPC ⁶			1,08	1,12	0,54	0,69	0,05
p (Hartley)			0,03	0,36	0,45	0,10	0,04
p (ANOVA)			< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

NOTA: ¹ L^{*} = luminosidade; ² a^{*} = coordenada de cromaticidade a^{*} ; ³ b^{*} = coordenada de cromaticidade b^{*} ; ⁴ C^{*} = intensidade de cor; ⁵ h^{*} = tonalidade de cor; ⁶Desvio padrão conjunto ($n = 6$); PS = proteína de soja; SG = suco de goiaba. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com relação à luminosidade (L^*), o menor valor (75,74) correspondeu à amostra 9 (Tabela 5), que continha 32% de suco de goiaba e 3% de proteína de soja. De uma maneira geral, evidenciou-se que quanto menos suco de goiaba empregado, maior a luminosidade das amostras (Figura 2.7), fato corroborado também pela correlação negativa entre luminosidade e cromaticidade ($r = -0,715$, $p < 0,05$) e luminosidade e tonalidade ($r = -0,452$, $p \geq 0,05$). De uma maneira geral, todas as amostras apresentaram valores relativamente altos de luminosidade e quanto maior a intensidade de cor, menos clara é a emulsão. A amostra 7 (1% proteína e 32% suco goiaba) apresentou o maior valor do componente cromático vermelho ($a^* = 14,60$) e valor alto do componente amarelo ($b^* = 15,26$), portanto, apresentou alta intensidade de cor ($C^* = 21,12$), o que é desejável em alimentos, pois a cor é a primeira característica que os consumidores avaliam antes de seu consumo e é comprovado que produtos alimentícios com maior intensidade de cor são os preferidos pelos consumidores (HUTCHINGS, 1999).

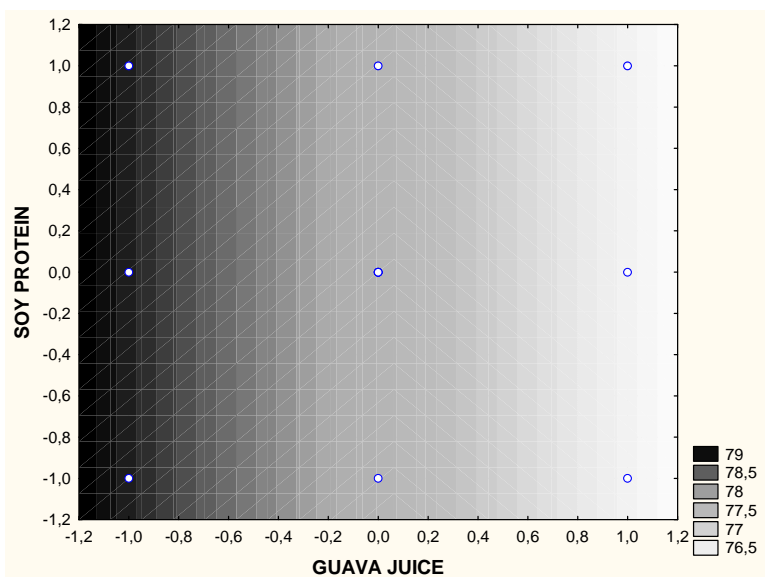


FIGURA 2.7- RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA NA LUMINOSIDADE DAS EMULSÕES.

Quanto mais suco de goiaba adicionado, mais vermelhas as emulsões se tornaram, como observado no aumento da coordenada a^* (Figura 2.8). A mesma tendência foi observada para a tonalidade (Figura 2.9). O extrato de soja conferiu impacto negativo na tonalidade, ao passo que o suco de goiaba foi determinante para a tonalidade vermelha. As amostras 4 (27% de suco de goiaba e 1% de proteína

de soja), 7 (32% de suco de goiaba e 1% de proteína de soja) e 8 (32% de suco de goiaba e 2% de proteína de soja) apresentaram os maiores valores de a^* e h^* . Além disso, a correlação entre a coordenada a^* e tonalidade ($r = 0,895$, $p < 0,05$) e cromaticidade ($r = 0,804$, $p < 0,05$) foi fortemente significativa, enquanto que a coordenada b^* apresentou correlação negativa, porém não significativa, com a tonalidade de cor ($r = -0,484$, $p \geq 0,05$). Esses resultados evidenciam a importância do suco de goiaba vermelha nos parâmetros de cor instrumental, e indicam que o suco é a variável mais significativa nas características colorimétricas das amostras.

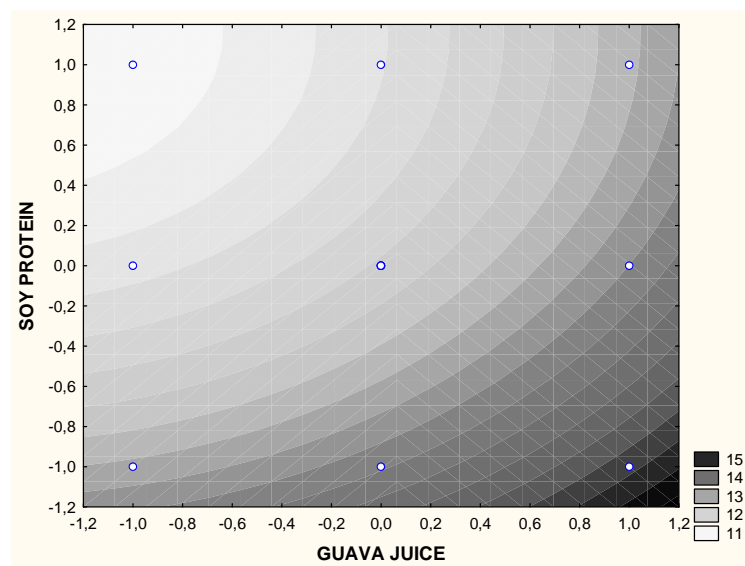


FIGURA 2.8- RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA NA COORDENADA a^* DAS AMOSTRAS.

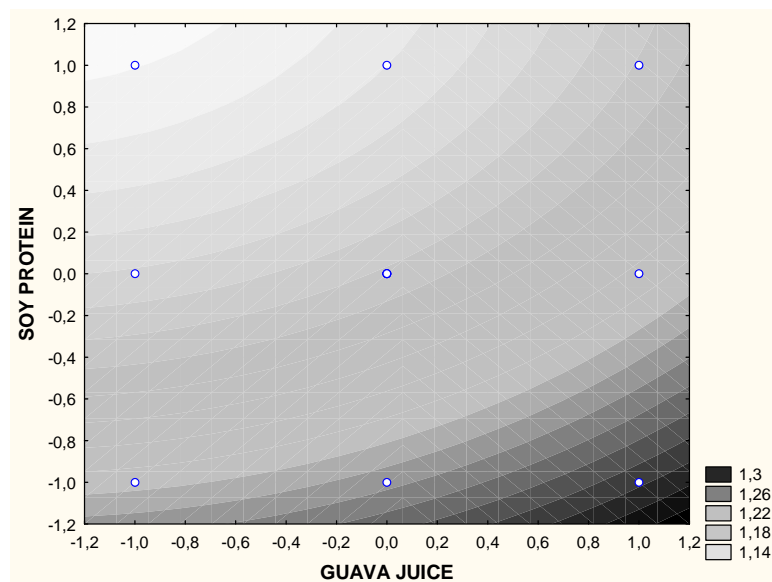


FIGURA 2.9- RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA NA TONALIDADE DE COR DAS AMOSTRAS.

A cor de alimentos é um parâmetro de consideração quando um produto é desenvolvido devido ao seu impacto na aceitabilidade inicial dos consumidores potenciais (RIZZO; MURATORE, 2009). A aparência de um produto consiste de sua estrutura visual, textura, distribuição de cor na superfície e brilho e, portanto, pode ser considerada um dos muitos fatores que determina a compra e o consumo regular (MEILGAARD; CIVILLE; CAAR, 1999).

2.3.3 Modelos matemáticos

Quando um modelo matemático é desenvolvido através da metodologia de superfície de resposta, a análise de variância é empregada para verificar quão bem ele pode representar os resultados experimentais (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007). De uma maneira geral, a exploração de uma superfície de resposta pode gerar resultados pobres e que não podem ser utilizados para continuidade do trabalho, por isso a checagem da adequação do modelo é essencial (LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005). Os dados obtidos utilizando a ANOVA apropriada ao delineamento experimental escolhido e os modelos matemáticos representando os dados físico-químicos e cromáticos das emulsões desenvolvidas em função das

variáveis independentes dentro da região de estudo estão apresentados na Tabela 2.6.

TABELA 2.6- MODELOS MATEMÁTICOS, COEFICIENTES DE REGRESSÃO, COEFICIENTES DE DETERMINAÇÃO E VALORES DE PROBABILIDADE (p) OBTIDOS ATRAVÉS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS EXPERIMENTAIS.

Respostas	Modelos de regressão	Valor p ¹	R ² _{adj} (%)	p ¹ (falta de ajuste)
Coordenada a*	$y = 12,40 - 0,99x_1 + 0,92x_2$	< 0,01	74,81	0,31 ^{ns}
Tonalidade	$y = 1,18 - 0,058x_1 + 0,031x_2$	< 0,04	80,95	0,44 ^{ns}
Luminosidade	$y = 77,59 - 1,24x_2$	0,004	68,79	0,20 ^{ns}
Cromaticidade	$y = 19,78 + 0,72x_2$	0,04	52,30	0,66 ^{ns}
Carotenóides ¹	$y = 1.351,68 + 52,15x_1 + 166,44x_2 + 50,21x_1x_2$	< 0,01	91,14	0,06 ^{ns}
pH	$y = 4,74 + 0,26x_1 - 0,058x_2 - 0,074x_1^2$	< 0,002	99,46	0,37 ^{ns}
Aw	$y = 0,98 - 0,0048x_1 + 0,0039x_2$	< 0,001	86,64	0,08 ^{ns}
Acidez ²	$y = 0,49 + 0,020x_2$	0,004	68,46	0,18 ^{ns}

NOTA: ¹Expresso em µg/ 100 g; ²Expresso em mg de ácido cítrico/100 g; x₁= proteína de soja; x₂= suco de goiaba; ns= não significativo. ¹Nível de probabilidade

O sinal negativo nos modelos de regressão mostra que o ingrediente (proteína de soja ou suco de goiaba) diminui significativamente a resposta avaliada. Já o sinal positivo nos modelos propostos indica que o suco de goiaba ou a proteína de soja aumenta o sinal da resposta. Ou seja, no caso da coordenada a*, a proteína de soja diminui a intensidade de cor vermelha na ordem de 0,99 vezes o valor que é utilizado de soja (0,99x₁). Já no caso da luminosidade, a proteína de soja não interfere significativamente na resposta e sim a quantidade de suco de goiaba que é adicionada na emulsão (-1,24x₂). Para a acidez e cromaticidade, verificou-se que o suco de goiaba é o ingrediente mais importante e significativo para aumentar a resposta (0,020x₂) e (0,72x₂), respectivamente.

Pode ser observado que os modelos apresentaram significância estatística (p < 0,05) e que os coeficientes de determinação ajustados (R²_{adj}), que indicam quanto da variabilidade das respostas pôde ser explicada, variaram de 74,81% a 99,46%, provando que os modelos empíricos se adequam satisfatoriamente aos dados experimentais. Os modelos de cromaticidade, luminosidade e acidez titulável apresentaram R²_{adj} < 70%, concluindo que eles possuem média relevância para explicar as variações nos resultados e, portanto, não podem ser utilizados para fins preditivos (RAVIKUMAR *et al.*, 2006). Entretanto, tais modelos podem ser utilizados

para fins de verificação de tendência dos resultados quando proteína de soja e suco de goiaba são utilizados para desenvolver emulsões uma vez que $R^2_{adj} > 60\%$. Coeficientes de determinação ajustados devem ter a magnitude de, pelo menos, 70% para serem considerados bons, ao passo que coeficientes acima de 90% são considerados excelentes (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007).

Coeficiente de determinação é definido como a razão entre a variação que pôde ser explicada pela variação total dos resultados, e é uma das medidas para avaliar o grau de adequação do modelo matemático proposto (SIN *et al.*, 2006). Valores baixos de R^2_{adj} representam menor relevância das variáveis dependentes têm no modelo e, ao contrário, o modelo se adequa satisfatoriamente aos dados quando R^2_{adj} se aproxima da unidade (WANG *et al.*, 2008). Na prática, valores próximos à unidade descrevem melhor a influência das variáveis independentes nas respostas avaliadas (NATH; CHATTOPADHYAY, 2007).

A análise de variância também mostrou que os modelos não apresentaram falta de ajuste ($p > 0,05$), o que os validou significativamente. A falta de ajuste mede o fracasso do modelo em representar os resultados no domínio experimental em pontos que não estão incluídos na regressão (BOX; DRAPPER, 1987; MYERS; MONTGOMERY, 2002). Baixos valores do nível de probabilidade (p) para os modelos indicam efeito significativo das variáveis independentes nos resultados dos parâmetros físico-químicos estudados neste estudo (QUANHONG; CAILI, 2005). Portanto, analisando-se os resultados da regressão múltipla, uma convergência entre os resultados experimentais e previstos por esses modelos foi obtido, concluindo-se que os modelos de tonalidade de cor, coordenada a^* , carotenóides, pH e atividade de água representam adequadamente os resultados obtidos e podem ser utilizados como preditores dentro da área experimental estudada.

2.3.4 Otimização físico-química e colorimétrica

O objetivo principal da otimização foi melhorar as características físico-químicas e colorimétricas das emulsões sem prolongar excessivamente o tempo do experimento. Primeiramente, estabeleceram-se critérios que definem, de uma maneira geral, a qualidade dos produtos. No caso deste trabalho, quatro parâmetros foram selecionados para se determinar as condições ótimas: pH, tonalidade de cor,

coordenada de cromaticidade a^* e teor de carotenóides. Acidez titulável e atividade de água não foram utilizados como parâmetros de otimização.

Quando se tem mais de uma resposta, geralmente o pesquisador se interessa em encontrar os valores operacionais ótimos das variáveis independentes que satisfaçam simultaneamente todos os requisitos necessários às variáveis dependentes (DESHPANDE; CHINNAN; MCWATTERS, 2008). A primeira coisa a se fazer é determinar o modelo apropriado para descrever as variáveis de resposta e então descobrir uma série de condições operacionais que otimize todas as respostas, ou no mínimo, mantenha-as em faixas desejáveis (CALADO; MONTGOMERY, 2003). Entretanto, em otimização de experimentos com grande número de respostas, escolhem-se as principais que caracterizem o produto de maneira mais específica e que tenha relação com as qualidades principais (YI *et al.*, 2009).

A otimização dos parâmetros selecionados foi realizada pelo programa Statistica 7.1, aplicando-se a técnica da função *desirability* e por imposição computacional exaustiva nos *grid points* com respostas ótimas, que incluíram os dados experimentais, com pequeno intervalo de variação para cada variável. Utilizou-se também a combinação das áreas que melhor satisfaziam todas as condições de otimização (Tabela 2.7).

Como resultado, a técnica de otimização indicou a mistura de 32% de suco de goiaba e 1,17% de proteína de soja para verificação dos resultados e provar ser o ponto ótimo. A adequação dos modelos selecionados para otimização foi testada usando as condições otimizadas selecionadas pela técnica de superfície-reposta. Não obstante os dados obtidos neste teste foram usados para validar experimentalmente os modelos propostos (Tabela 2.7).

TABELA 2.7- VALORES PREVISTOS E EXPERIMENTAIS PARA A OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE EMULSÃO CONTENDO SUCO DE GOIABA E PROTEÍNA DE SOJA

Parâmetros	Objetivo	Média dos valores		Erro absoluto residual ² (%)
		previstos	Valores observados ¹	
Coordenada <i>a</i> *	Máximo	13,44	13,50 ± 0,03	0,44
Tonalidade cor	Máximo	1,22	1,21 ± 0,001	0,83
Carotenóides ³	Máximo	1.507,90	1.497,93 ± 74,26	0,67
pH	Mínimo	4,64	4,62 ± 0,01	0,43

NOTE: ¹Média ± Desvio padrão (n = 3); ²O erro absoluto residual foi computado como: [(Valor experimental – Valor previsto)/Valor experimental] * 100. ³Expresso em µg/100 g.

Verificou-se que houve satisfatória correlação entre os resultados experimentais e previstos. A validação dos resultados experimentais indicou baixo erro absoluto residual para todos os parâmetros avaliados, indicando a adequação dos modelos propostos pela técnica de superfície-reposta. Assim, confirmou-se que os modelos matemáticos foram adequados e que a mistura de 32% de suco de goiaba e 1,17% de proteína de soja apresentou características físico-químicas e colorimétricas ótimas para se obter melhores respostas de tonalidade (*h**), cor vermelha (*a**), pH e carotenóides.

2.3.5. Caracterização da amostra otimizada

O perfil de minerais da amostra elaborada com 32% de suco de goiaba e 1,17% de proteína de soja, indicada como formulação otimizada do experimento, é mostrado a Tabela 2.8. De acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2005), a amostra de emulsão pode ser considerada fonte de fibras e ácido ascórbico para consumidores com idade igual ou acima de 19 anos. Para consumidores entre 7 e 10 anos de idade, o produto desenvolvido é fonte de cobre, ferro e magnésio.

TABELA 2.8- CONTEÚDO MINERAL, DE FIBRAS DIETÉTICAS E ÁCIDO ASCÓRBICO DA AMOSTRA DE EMULSÃO OTIMIZADA

NUTRIENTE	AMOSTRA OTIMIZADA ¹ (mg/100 g)	VDR ²	VDR ³
Ca	96,13 ± 6,59	9,61	13,73
P	81,72 ± 6,34	11,67	6,54
K	47,88 ± 3,91	6,84	3,83
Na	49,80 ± 4,01	2,10	2,10
Fe	2,09 ± 0,03	14,92	23,22
Mg	13,74 ± 0,65	5,28	13,74
Mn	0,14 ± 0,02	6,10	9,33
Cu	0,13 ± 0,01	14,45	29,55
Zn	0,31 ± 0,04	4,43	5,53
Ácido ascórbico	9,95 ± 0,50	22,11	28,43
Fibra dietética ⁴	2,99 ± 0,03	12,00	12,00

NOTA: ¹Amostra contendo 1,17% de proteína de soja e 32% de suco de goiaba; ²Valor diário recomendado de ingestão para adultos (≥ 19 anos). ³Valor diário recomendado de ingestão para crianças entre 7-10 anos. ⁴Expressa como g/100 g.

2.4 CONCLUSÕES

- As amostras apresentaram alto teor de carotenóides ($> 1150 \mu\text{g}/100 \text{ g}$), fator que agrega valor nutricional aos produtos desenvolvidos;
- Suco de goiaba foi a variável mais importante nas características colorimétricas, do teor de carotenóides e nos valores de pH e acidez titulável das emulsões;
- A combinação de 32% de suco de goiaba e 1,17% de proteína de soja levou a obtenção de valores otimizados de pH, teor de carotenóides totais, tonalidade de cor e intensidade de cor vermelha;
- A amostra otimizada é classificada como fonte de fibras dietéticas, ácido ascórbico, magnésio e ferro, de acordo com a legislação brasileira vigente;
- Os resultados indicam uma possível exploração por parte de indústrias das emulsões desenvolvidas com os ingredientes utilizados neste estudo e, assim, o número de produtos destituídos de lactose poderia aumentar no mercado, oferecendo novas opções para os intolerantes.

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E SENSORIAL DE EMULSÃO DE GOIABA PARA
INTOLERANTES À LACTOSE**

RESUMO

Produtos com capacidade de promover a saúde além de fornecer nutrientes básicos são altamente aceitos pelos consumidores e, portanto, o desenvolvimento de alimentos funcionais é uma oportunidade de contribuir com a melhoria de qualidade dos produtos e aumentar o bem estar e saúde do consumidor. Assim, este trabalho objetivou a caracterização física e sensorial de emulsão à base de soja e goiaba, com adição de oligofrutose e ferro. A análise sensorial contou com 75 provadores universitários que usaram uma escala hedônica de sete pontos para avaliar a aceitação global, cremosidade, aroma, sabor, acidez, cor e aparência das emulsões. As amostras também foram submetidas ao teste de ordenação de preferência. A estabilidade física das emulsões foi testada por duas metodologias: capacidade de retenção de água após emulsificação e índice de sedimentação após 72 horas de armazenamento refrigerado. As amostras de emulsão foram estudadas em relação à presença de coliformes a 35°C, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella sp*, bolores e leveduras. Os dados foram submetidos à análise de homogeneidade através do teste de Hartley e, em seguida, ANOVA fatorial e teste de Tukey ($\alpha < 0,05$). Homogeneidade dos dados sensoriais e diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram observadas entre as amostras, de acordo com a quantidade de suco de goiaba e proteína de soja empregados. O produto contendo 32% de suco de goiaba e 2% de proteína de soja foi investigada pelo seu teor de minerais, ácido ascórbico e fibras e verificou-se que a emulsão continha mais de 15% do valor recomendado de ingestão diário de cobre, ferro e ácido ascórbico.

Palavras-chave: Aceitação sensorial. Oligofrutose. Alimentos funcionais. Estabilidade física. Minerais. *Psidium guajava*.

ABSTRACT

Products with ability to promote health beyond being source of basic nutrients are eagerly accepted by consumers, so the development of functional foods is an opportune way to contribute to the product quality and boost the consumer's health and well-being. This work is aimed at characterizing physicochemical and physically of a soy-based emulsions with addition of oligofructose, guava juice and iron. developing a lactose-free, soy-based emulsion with the addition of oligofructose and guava juice (3²). A total number of 75 panelists used a seven-point hedonic scale to assess the acceptance, creaminess, flavor, taste, acidity, color, and overall appearance of the trials. In addition, the samples were also submitted to the ranking test in order to evaluate the preference. Physical stability was evaluated using two methodologies: water-holding capacity and backscattering after 72 hours of the emulsification process. Microbial counts based on total and thermotolerant coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella sp*, molds and yeasts were measured. The results were submitted to the Hartley's test to check the homogeneity of variances and secondly factorial ANOVA and Tukey's test were applied ($\alpha < 0.05$). The data showed that all the variances from all the sensory attributes were homogenous ($p > 0.05$) and there were statistical differences ($p < 0.05$) in the parameters in accordance with the quantity of ingredients used in the trials. The emulsion samples presented good stability against gravity and storage. It could be concluded that the emulsion produced with 32% of guava juice and 2% of soy protein presented the most suitable sensory and physicochemical features, in addition to providing more than 15% of the Brazilian Daily Recommended Value of copper, iron and ascorbic acid.

Keywords: Sensory acceptance. Oligofructose. Functional foods. Physical stability. Minerals. *Psidium guajava*.

CAPÍTULO 3

3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E SENSORIAL DE EMULSÃO DE GOIABA PARA INTOLERANTES À LACTOSE

3.1 INTRODUÇÃO

Os consumidores estão mais atentos à relação entre saúde e alimentos, portanto estão, cada vez mais, buscando otimizar sua performance física e reduzir o risco de doenças através do consumo de alimentos e bebidas funcionais (ABIA, 2008). Essa condição é refletida pelo crescimento acentuado do mercado e pela grande quantidade de alimentos funcionais que vêm entrando no mercado mundial (LANE, 2007). Alimentos funcionais são aqueles que promovem a nutrição básica e, ao mesmo tempo, contêm naturalmente ou são adicionados de componentes bioativos como fibras prebióticas, cepas bacterianas probióticas, polifenóis com propriedades antioxidantes, esteróis, carotenóides e etc. (AZORÍN-ORTUÑO *et al.*, 2009).

O consumidor norte-americano gasta, em média, US\$ 90 por ano em bebidas e alimentos com propriedades funcionais, resultando em um mercado que ultrapassou US\$ 27 bilhões em 2007. O mercado mundial desses alimentos gerou em 2000 US\$ 33 bilhões, em 2005 o total foi de US\$ 73,5 bilhões (JUSTFOOD, 2006) e as estimativas mostram que as vendas atingirão até 2010, US\$ 167 bilhões anualmente, com taxa média de crescimento de 10% ao ano (RESEARCH MARKETS, 2007). Como o mercado está em expansão, o desenvolvimento de produtos combinando ingredientes funcionais também continuará a crescer devido à demanda e por suas propriedades (DUTCOSKY *et al.*, 2006).

Produtos com capacidade de promover a saúde além de fornecer nutrientes básicos são altamente aceitos pelos consumidores e, portanto, o desenvolvimento de alimentos funcionais é uma oportunidade para contribuir com a melhoria de qualidade dos produtos e aumentar o bem estar e saúde do consumidor (JEW;

JONES 2007). Além disso, essa atividade é de grande interesse de órgãos governamentais, da indústria e do corpo acadêmico (RODRÍGUEZ *et al.*, 2003).

De acordo com Jousse (2008), o desenvolvimento de novos produtos é um desafio constante tanto para indústria quanto para a ciência e, tem sido observado que problemas técnicos como a modelagem dos resultados, delineamento experimental e escolha de variáveis independentes dificultam essa operação. A escolha de variáveis e a otimização das principais características do alimento são as principais tarefas para obter a melhor formulação (DUTCOSKY *et al.*, 2006). Para isso, as indústrias objetivam a determinação dos níveis ótimos dos ingredientes principais para obter respostas ideais de parâmetros físico-químicos, reológicos e sensoriais (CASTRO *et al.*, 2003).

O mercado demanda por produtos com baixo custo e que apresentem benefícios nutricionais agregados. Sendo assim, muitos pesquisadores têm desenvolvido diferentes ingredientes para produzir tais produtos, com apelo nutricional favorável, com vida comercial média ou alta, com estabilidade física, físico-química e com qualidade sensorial (JOUSSE, 2008).

Neste contexto, emulsões consumidas em diferentes formas (molhos, sobremesas, bebidas, etc.) têm sido desenvolvidas no intuito de oferecer novas formas de alimentos para a sociedade tais como: maionese sem colesterol e com alto teor de minerais (IZIDORO *et al.*, 2008), maionese com baixo teor de colesterol (DRAKOS *et al.*, 2008), sobremesas lácteas com ingredientes que estimulam o sistema imunológico (PINTO *et al.*, 2003; DYBOWSKA, 2008), sobremesa com proteína de soja (THE *et al.*, 2005), emulsão com óleo de girassol, rico em ácidos graxos poliinsaturados (WHITE *et al.*, 2008), emulsão estabilizada com lecitina de soja (SURH *et al.*, 2008), emulsão contendo o soro de leite bovino (YE, 2008), emulsão estabilizada com farinha de lagosta, rica em proteínas de alto valor biológico (ROMERO *et al.*, 2008), alimentos contendo gomas xantana, arábica e carboximetilcelulose, com efeitos prebióticos (JIRAPEANGTONG *et al.*, 2008; MIRHOSSEINI *et al.*, 2008), emulsão contendo algas marinhas ricas em fenóis e proteínas (COFRADES *et al.*, 2008), emulsão contendo óleo de frutas (LOGARAI *et al.*, 2008) e assim por diante.

No Brasil, a produção de soja é relativamente barata e, portanto, o uso da sua proteína no desenvolvimento de emulsões para diversos fins pode ser uma maneira barata de aumentar o número de produtos vegetarianos, sem lactose e colesterol,

oferecidos aos consumidores mais exigentes com a alimentação saudável e até mesmo para os intolerantes à lactose. A soja e seus derivados têm recebido atenção dos pesquisadores, principalmente devido à quantidade e qualidade de sua proteína, sendo considerada, dentre os vegetais, o melhor substituto de produtos de origem animal (DE ANGELIS, 1999). A proteína de soja apresenta um bom perfil de aminoácidos, sendo considerados limitantes apenas os sulfurados como a cisteína, cistina e metionina (FRANCO, 1996). Além disso, a soja é fonte de fibras solúveis, magnésio, fósforo, cobre e zinco, além das vitaminas K, E, tiamina riboflavina e ácido fólico (USDA, 2003).

A principal limitação no desenvolvimento de produtos à base de soja é seu sabor adstringente devido à ação enzimática sobre os ácidos graxos poliinsaturados (BEHRENS; ROIG; SILVA, 2004). Assim, o sabor é uma característica muito importante no estudo da adição de soja em produtos alimentícios. Não apenas o sabor, mas também a conveniência, nutrição e preço são alguns fatores que consumidores procuram em um produto (IZZU; NINESS, 2001). Por essa razão, antes de inseri-los no mercado, a indústria deve conduzir testes sensoriais para determinar qual é a amostra preferida pelos consumidores potenciais e determinar quais níveis o alimento deve possuir para obter êxito (YACKINOUS *et al.*, 1999).

Entre os alimentos desenvolvidos pela indústria, os destituídos de lactose são a nova tendência devido ao grande número de consumidores afetados pela deficiência de produção de lactase. Essa deficiência está distribuída em mais de 75% da população mundial, 28% no Brasil e 30% nos Estados Unidos (ALM, 2002). Portanto, a elaboração de produtos sem lactose é uma tarefa necessária e, neste contexto, os subprodutos da soja como a proteína texturizada e o extrato hidrossolúvel são opções acessíveis e nutritivas (USDA, 2003).

Fibras dietéticas como as provenientes do trigo, aveia, goiaba, inulina, oligofrutose, lactulose e outras estão começando a ser mais exploradas pela indústria no intuito de desenvolver produtos com funcionalidade (DUTCOSKY *et al.*, 2006; CARDARELLI *et al.*, 2008), uma vez que possuem muitos efeitos fisiológicos benéficos como melhora na constipação (DENHOND *et al.*, 2000), aumento de bactérias benéficas nos intestinos (GIBSON *et al.*, 2004), aumento da mineralização óssea (BOOSCHER *et al.*, 2007), diminuição dos níveis de triacilgliceróis e colesterol no sangue (ALLIET *et al.*, 2007), prevenção de alguns tipos de câncer (REDDY *et al.*, 1997) e da hipertensão arterial (MANZUR *et al.*, 2008). Então, a adição de

oligofrutose nos alimentos processados parece ser uma alternativa conveniente de aumentar a ingestão de fibras na dieta convencional e maximizar a saúde dos consumidores.

Uma vez que a maioria dos produtos à base de soja possui um *flavour* desagradável, pesquisas no sentido de otimizar as características sensoriais de tais produtos é desejável e necessário para obter maior aceitação no mercado (CHEN; WEINGARTNER; BREWER, 2003; BEHRENS; ROIG; SILVA, 2004; THE *et al.*, 2005). Assim, esta pesquisa objetivou o estudo da caracterização física e sensorial de emulsão a partir de soja e suco de goiaba vermelha, com adição de ferro e oligofrutose, no intuito de oferecer uma nova opção para os intolerantes à lactose.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material e delineamento experimental

As matérias-primas empregadas foram o extrato hidrossolúvel de soja (44% proteína), sacarose comercial, sulfato de ferro padrão alimentar, mistura comercial de emulsificantes (polisorbato 60, monoglicerídeos destilados e monoesterato sorbitano), goma guar e carboximetilcelulose (1:1), aroma idêntico ao natural de goiaba, creme de soja (18,67% lipídeos totais), oligofrutose (95% pureza), suco de goiaba em pó, suco concentrado de goiaba (45% polpa).

O estudo foi conduzido de acordo com Box e Drapper (1987), utilizando delineamento fatorial (3^2) onde duas variáveis independentes foram utilizadas: suco de goiaba e proteína de soja. Os níveis mínimos, médios e máximos de suco de soja foram estabelecidos em 22%, 27% e 32% (m/m), respectivamente; e para a proteína de soja os níveis foram 1,0%, 2,0% e 3,0% (m/m). Os níveis foram baseados de acordo com estudos preliminares. O delineamento completo constituiu-se de 11 experimentos, incluindo nove experimentos fatoriais (níveis -1 e +1) e duas replicatas no ponto central, como observado na Tabela 3.1.

TABELA 3.1- DELINEAMENTO FATORIAL COMPLETO (3^2) APLICADO AO DESENVOLVIMENTO DAS EMULSÕES À BASE DE PROTEÍNA DE SOJA E SUCO DE GOIABA VERMELHA

AMOSTRAS	VARIÁVEIS INDEPENDENTES		MATRIZ DECODIFICADA	
	SG	PS	SG (%)	PS (%)
1	-1,00	-1,00	22	1,00
2	-1,00	0,00	22	2,00
3	-1,00	1,00	22	3,00
4	0,00	-1,00	27	1,00
5	0,00	0,00	27	2,00
6	0,00	1,00	27	3,00
7	1,00	-1,00	32	1,00
8	1,00	0,00	32	2,00
9	1,00	1,00	32	3,00
10 (C)	0,00	0,00	27	2,00
11 (C)	0,00	0,00	27	2,00

NOTA: SG= suco de goiaba; PS= proteína de soja; (C)= ponto central.

3.2.2. Produção das emulsões

Cada lote das emulsões foi produzido em quantidade suficiente para obter 3,50 kg. Para a produção das amostras foi seguido o fluxograma (Figura 2.1) contido no Capítulo 2. As matérias-primas e suas respectivas quantidades empregadas para a produção das emulsões estão descritas na Tabela 2.2, contida no Capítulo 2. A oligofrutose foi adicionada nas formulações na concentração de 2,5% para poder ser considerada fonte de fibras. Os produtos obtidos foram embalados em potes de poliestireno com capacidade de 50 mL, cobertos com tampa, e mantidos sob refrigeração a $7 \pm 1^\circ\text{C}$. O tempo de elaboração e análise sensorial não foi superior a 24 horas.

3.2.3 Avaliação microbiológica

As análises foram efetuadas de acordo com as técnicas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (BRASIL, 1992) e que são exigidas pela Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, que aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.

Segundo essa legislação, não há padrões microbiológicos específicos para sobremesas à base de extrato hidrossolúvel de soja pasteurizadas e resfriadas. Entretanto, segundo a ANVISA na Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), para sobremesas lácteas é obrigatório a análise de *Staphylococcus aureus*, coliformes a 45°C , *Bacillus cereus* e *Salmonella sp* e para produtos com soja os microorganismos a serem pesquisados são *Salmonella sp*, coliformes a 45°C e *Bacillus cereus*. Assim, utilizou-se como padrão a legislação para sobremesas com base láctea por ser mais exigente do que a proposta para alimentos com soja.

Na análise de coliformes a 45°C , o limite para o Número Mais Provável (NMP) é de 5 NMP. A contagem de *Bacillus cereus* deve ser inferior a 500 microorganismos por grama de amostra indicativa e a *Salmonella sp*. deve estar ausente no produto.

Para as análises microbiológicas foram pesadas 25 g da amostra e colocados em recipiente esterilizado. Em seguida, adicionou-se caldo lactosado a 0,1% (diluição 10^{-1}) e procedeu-se à homogeneização. A partir desta diluição inicial (10^{-1}) foram feitas as diluições seriadas 10^{-2} e 10^{-3} em tubos de ensaio contendo água

peptonada esterilizada a 0,1%. Todos os procedimentos microbiológicos foram realizados de acordo com o protocolo descrito pela APHA (2001).

A interpretação dos resultados foi feita de acordo com os critérios microbiológicos estabelecidos na legislação brasileira (BRASIL, 2001).

3.2.3.1 Determinação de coliformes

Para a enumeração de coliformes a 35°C (totais) e coliformes a 45°C (termotolerantes), foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP), empregando-se diluições decimais com semeadura em caldo lactose verde brilhante bile 2%, contendo tubo de Durham invertido, sob incubação a 35°C por 24 - 48 horas. As amostras positivas foram semeadas em tubos contendo caldo EC e tubo de Durham invertido, com posterior incubação em banho-maria circulante a 45°C por 24 horas, e confirmação da presença de coliformes 45°C por meio das provas de verificação da produção do indol e utilização do citrato (APHA, 2001).

3.2.3.2 Contagem de *Staphylococcus aureus*

A contagem de *Staphylococcus aureus* foi realizada em ágar Baird Parker (BP) usando-se diluições de 10^{-1} a 10^{-3} , com posterior incubação a 35°C por 24 - 48 horas. As colônias suspeitas foram testadas para a produção de coagulase, termonuclease e prova de oxidação e fermentação de glicose e manitol (APHA, 2001).

3.2.3.3 Contagem de *Bacillus cereus*

Para a contagem de *Bacillus cereus* utilizou-se a sementeira em ágar Manitol adicionado de gema de ovo e Polimixina B. Após incubação a 35°C por 24 - 48 horas, as colônias suspeitas foram testadas para motilidade, redução do nitrato, Voges-Proskauer, hemólise, fermentação anaeróbica da glicose, crescimento rizóide, formação de cristais de toxina e decomposição da tirosina (APHA, 2001).

3.2.3.4 Pesquisa por *Salmonella* sp.

A pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizada semeando-se as amostras em frascos contendo água peptonada e tamponada a 1% e incubadas a 35°C por 24 horas. A partir da cultura pré-enriquecida, transferiu-se 1,0 mL do cultivo para um tubo contendo caldo tetratonato, solução aquosa de verde brilhante a 0,1% e solução iodo-iodetada. Em outro tubo, adicionou-se 1,0 mL do cultivo e 10 mL de caldo Selenito-Cistina, com incubação a 43°C por 24 horas. Para o isolamento e seleção, foram usados os caldos de enriquecimento seletivo, procedendo-se o isolamento pela técnica de esgotamento em placas de ágar verde-brilhante vermelho-de-fenol-lactosesacarose (BPLS), com novobiocina e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD), a 35°C por 24 horas. Após este procedimento, a identificação bioquímica das culturas suspeitas foi realizada usando-se caldo triptona, caldo vermelho de metila e Voges-Proskauer, ágar fenilalanina, ágar citrato de Simmons, caldo ducitol, meio contendo KCN, caldo malonato, e teste de ação sobre os aminoácidos arginina, ornitina e lisina (APHA, 2001).

3.2.3.5 Bolores e leveduras

A contagem de bolores e leveduras foi realizada em meio ágar-batata-dextrosado (BDA), acidificado com ácido tartárico 10% até atingir pH 3,5, com posterior incubação a 25°C por cinco dias (APHA, 2001).

3.2.4 Avaliação sensorial

Para análise sensorial das amostras de emulsão foram aplicadas duas metodologias: o primeiro teste utilizado foi o afetivo de aceitação, onde os atributos de cor, sabor, cremosidade, aroma, aparência, aceitação global e acidez foram avaliados através de uma escala hedônica de sete pontos estruturados variando de 1 = 'Desgostei muito' a 7 = 'Gostei muito' (ABNT, 1999). O segundo teste foi o de ordenação de preferência. Os provadores foram instruídos a ordenar as amostras da mais preferida (escore maior) para a menos preferida (escore menor) de acordo com sua impressão global da amostra após avaliar as emulsões apresentadas em cada sessão. As amostras submetidas ao teste de ordenação de preferência foram

divididas em três grupos aleatórios para que não houvesse resultados tendenciosos no experimento, sendo que cada amostra contida no ponto central (2% proteína e 27% de suco de goiaba) foi apresentada em uma sessão (LAWLESS; HEYMANN, 1999):

Grupo de ordenação 1: Foram avaliadas 4 amostras de emulsão escolhidas de modo que uma amostra contida no ponto central (27% suco de goiaba e 2% de proteína de soja) estivesse contida no grupo, uma vez que 3 testes de ordenação seriam realizados para o experimento contendo 11 ensaios. Os ensaios analisados pelos julgadores foram: amostras 1, 2, 5 e 11.

Grupo de ordenação 2: Foram avaliadas 4 amostras de emulsão escolhidas de modo que uma amostra contida no ponto central (27% suco de goiaba e 2% de proteína de soja) estivesse contida no grupo. Os ensaios escolhidos foram: ensaio 4, 7, 9, e 10.

Grupo de ordenação 3: Foram avaliadas 3 amostras de emulsão escolhidas de modo que uma amostra contida no ponto central (27% suco de goiaba e 2% de proteína de soja) estivesse contida no grupo. Os ensaios escolhidos foram: ensaio 3, 6 e 8.

Grupo de ordenação 4: Nesta etapa, os 3 tratamentos com melhores notas no perfil de atributos e/ou melhores características nutricionais foram escolhidos para serem ordenados de acordo com a preferência geral de cada julgador, de modo que apenas uma formulação fosse escolhida.

Foram utilizados 75 provadores não-treinados (17 - 53 anos; 39 homens e 36 mulheres) que declaram consumir produtos contendo soja, pelo menos uma vez por semana. Antes de avaliarem, os provadores foram informados sobre a metodologia de cada método empregado (perfil de atributos e ordenação). Os mesmos provadores foram utilizados em todas as etapas da análise para diminuir a variabilidade dos resultados obtidos.

As amostras resfriadas (7°C) foram servidas, em ordem aleatória, em copos plásticos com colheres. Água mineral e biscoito salgado foram distribuídos para limpeza do palato entre as amostras. Os testes foram efetuados em cabines individuais, com luz branca e temperatura de 20°C, entre 10 - 12h e 14 - 17h.

3.2.5 Estabilidade física

Neste estudo, a estabilidade das emulsões foi analisada utilizando duas metodologias diferentes: capacidade de retenção de água (CRA) e índice de sedimentação (IS). Para o primeiro, uma amostra de 20 gramas de emulsão a 7°C (SO), após 72 horas de armazenamento refrigerado, foi colocada em um tubo cilíndrico e centrifugada por 45 minutos a 5000 rpm. O soro expelido (SE) foi removido e pesado, sendo a CRA calculada pela Equação 3.1, segundo Remeuf *et al.* (2003):

$$CRA = 100 \cdot \frac{(SO - SE)}{SO} \quad (3.1)$$

Já estabilidade refrigerada a 7°C, medida pela sedimentação de partículas no fundo do tubo de ensaio, foi avaliada pela desestabilização de 30 gramas de amostra em tubo cilíndrico, após 72 horas de refrigeração. Massa total da amostra (PA) e massa total do soro liberado (SL) foram pesados e o índice de sedimentação (IS) a 7°C foi calculado de acordo com a Equação 3.2 proposta por Romero *et al.* (2008):

$$IS = 100 \cdot \frac{SL}{PA} \quad (3.2)$$

3.2.6 Análise estatística

Os resultados das análises da estabilidade e da escala hedônica e foram inicialmente submetidos ao teste de Hartley para checar a homogeneidade ($\alpha = 0,05$). No segundo passo, ANOVA fatorial foi conduzida para os resultados de escala hedônica para determinar significâncias e efeitos principais entre amostras ($n = 11$) e julgadores ($n = 75$), seguido do teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$) (MYERS; MONTGOMERY, 2002).

Os dados obtidos pelo teste de ordenação de preferência são ordinais e, portanto, foi utilizada a análise de variância Friedman para verificar diferenças

estatísticas ($p < 0,05$) entre a preferência de cada grupo de amostra (DUTCOSKY, 2007).

Para aplicação do teste de Friedman foi empregada a Equação 3.3:

$$X_0 = \frac{12}{pt(t+1)}(\sum Ri^2) - 3p(t+1) \quad (3.3)$$

Sendo que:

X_0 : valor do qui-quadrado da amostra

p: número de provadores

t: número de tratamentos

R_i : totais de ordenação

O X_0 foi comparado com o valor de qui-quadrado tabelado (X^2), levando em consideração o seguinte parâmetro: caso X_0 fosse maior ou igual a X^2 , existia diferença entre pelo menos dois tratamentos (amostras) no nível de significância de 5%. Caso X_0 fosse menor que X^2 não haveria diferença entre os tratamentos (DUTCOSKY, 2007).

Os índices de aceitação foram calculados pela porcentagem de escores 5 (Gostar ligeiramente), 6 (Gostar moderadamente) e 7 (Gostar muito) (MEILGAARD; CIVILLE; CAAR, 1999). O coeficiente de Pearson (r), que mede o grau de ligação entre duas matrizes de dados, foi calculado para a avaliação da associação entre os atributos sensoriais. Os resultados foram expressos pelo valor médio e o desvio padrão conjunto para cada parâmetro também foi apresentado. Utilizou-se o programa Statistica 7.1 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA) para todas as análises estatísticas.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Avaliação microbiológica

As amostras apresentaram contagens de coliformes totais e termotolerantes abaixo de 3 NMP/g, *S.aureus* e *B.cereus* abaixo de 10^2 NMP/g, bolores e leveduras abaixo de 10^2 UFC/g, além de ausência de *Salmonella* sp. De acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2001), emulsão tipo sobremesa láctea não deve apresentar *Salmonella* em 25 gramas, e os limites máximos para *S. aureus* e *B. cereus* são de 5×10^2 NMP/g, para coliformes termotolerantes o valor máximo é 5 NMP/g e não há valor recomendado para bolores e leveduras e coliformes fermentadores a 35°C. Portanto as amostras estão dentro dos valores preconizados pela legislação.

3.3.2 Estabilidade física

Apenas a amostra F4 (1% proteína de soja e 27% suco de goiaba) apresentou 87,30% de capacidade de retenção de água e um índice de sedimentação de 6,40%, sendo que as demais reteram 100% da água livre no sistema e não apresentaram sedimentação, provando que a concentração de emulsificantes foi suficiente para evitar desestabilização das emulsões (Figura 3.1). A desestabilização da amostra 4 pode ser oriunda de baixa concentração de proteína bem como sua solubilização no meio, efeito essencial para formação da matriz que adsorve água e previne a coalescência. Na prática, o armazenamento refrigerado promove o desenvolvimento de uma rede tridimensional entre as proteínas, água e lipídeos, aumentando as interações entre as partículas de proteínas e lipídeos, que retém a água e evitam a coalescência. Proteínas da interface óleo/água participam neste processo aumentando o número de interações entre as partículas (ROMERO *et al.*, 2008). Não obstante, emulsões estabilizadas por proteínas são geralmente muito estáveis, uma vez que são capazes de formar camadas densas de adsorção em que são unidas por fortes e coesivas ligações intermoleculares (VAN AKEN, 2004).

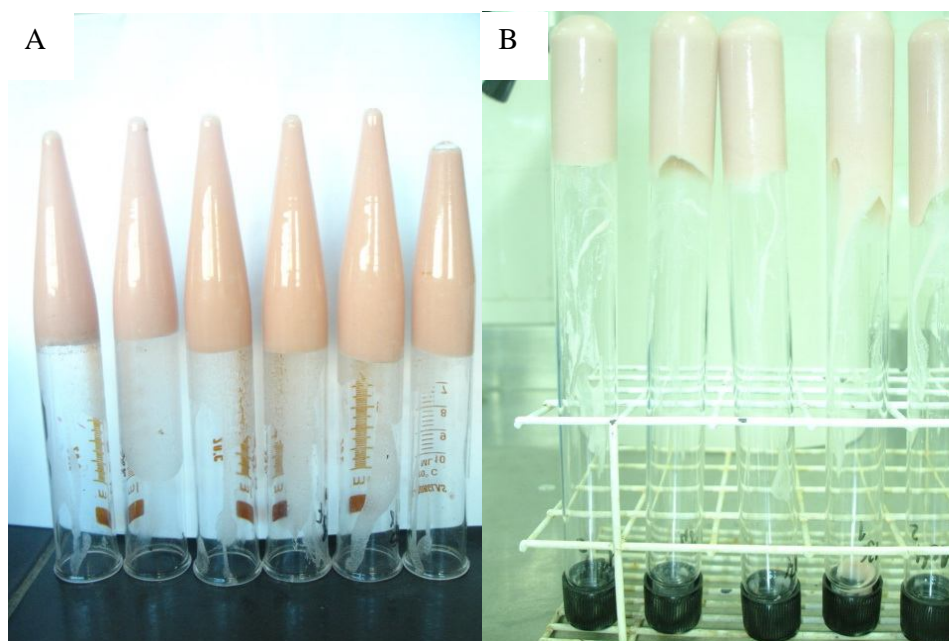


FIGURA 3.1: ALGUMAS AMOSTRAS APÓS CENTRIGUGAÇÃO A 5000 rpm POR 45 MINUTOS (A) E ESTABILIDADE APÓS 72 HORAS DE REFEIGERAÇÃO A 7°C (B).

Proteína de soja e oligofrutose oferecem muitas vantagens tecnológicas como retenção de água, promoção da viscosidade e aumento da estabilidade em diferentes temperaturas (PSZCZOLA, 1999), o que pode ter promovido o comportamento estável nas emulsões. Além disso, em emulsões alimentícias, os polissacarídeos usados pela indústria como a goma guar, xantana, arábica, carboximetilcelulose, amido modificado e galactomananas interagem fortemente com a camada de proteína adsorvida, produzindo forças repulsivas e estabilizando a emulsão, conferindo muitas características aos alimentos como cremosidade na cavidade oral, alto rendimento para suspensão de sólidos e estabilidade durante estocagem (DICKINSON, 2003).

Se a concentração de emulsificante fosse muito baixa ou inexistente, uma camada aquosa nos tubos de ensaio haveria se formado com o passar do tempo de armazenamento (MENGUAL *et al.*, 1999). Este processo de sedimentação foi observado apenas na amostra 4, indicando que a rede protéica foi capaz de reter a maior parte da água durante o tempo de 72 horas de armazenamento refrigerado. Não obstante, o mecanismo de coalescência está limitado às primeiras 48 horas após a emulsificação (PALAZOLO *et al.*, 2005).

Matrizes protéicas têm a capacidade de reter água quando submetidas ao processo de centrifugação (XIONG, 1997). Capacidade de retenção de água (CRA) é definida como a habilidade de uma emulsão em reter água livre (quimicamente não ligada) quando uma força externa como corte ou pressão é aplicada (ARCO-GARCIA *et al.*, 2002). A CRA é particularmente importante em cremes, sobremesas e iogurtes devido ao impacto negativo na aceitação dos consumidores caso haja sinérese ou coalescência. Então, a avaliação da estabilidade física de emulsões é uma maneira adequada para se entender a relação entre a qualidade sensorial e estabilidade de novos produtos emulsionados.

3.3.3 Atributos sensoriais

A Tabela 3.2 (anexo final do capítulo) mostra que as variâncias entre as notas dos atributos sensoriais foram homogêneas ($p > 0,05$), assim, os resultados puderam ser testados pela análise de variância fatorial (amostras, provadores), seguida do teste de Tukey para identificar diferenças entre as amostras nos atributos avaliados. É necessário realizar o teste de homogeneidade em dados sensoriais para se provar que esses estão dentro de uma faixa normal de distribuição, sendo considerados potenciais para serem submetidos aos testes de média, como o de Tukey, Duncan, Fisher, etc.

Quase todas as amostras apresentaram escores sensoriais dentro da faixa de aceitabilidade (escores iguais ou maiores que 5,00 - gostei ligeiramente). As formulações que apresentaram notas abaixo desta não são consideradas potenciais de mercado. A formulação F7 (32% suco de goiaba e 1% de proteína de soja) apresentou os maiores escores de sabor, cor e aparência, ao passo que a formulação F6 (27% suco de goiaba e 3% de proteína de soja) obteve a maior nota para cremosidade. Este resultado era esperado uma vez que para se obter maior teor protéico, mais extrato de soja foi usado, ingrediente que contém gorduras e carboidratos que quando estabilizados por emulsificantes em meio aquoso formam a rede tridimensional, Fretendo água e dando aspecto mais cremoso às formulações.

As emulsões F2 (22% suco de goiaba e 2% de proteína de soja) e F9 (32% suco de goiaba e 3% de proteína de soja) foram as únicas que não obtiveram notas aceitáveis ($\geq 5,00$) para o atributo de sabor. Por outro lado as emulsões F6 (27% suco de goiaba e 3% de proteína de soja), F7 (32% suco de goiaba e 1% de

proteína de soja) e F8 (32% suco de goiaba e 2% de proteína de soja) mostraram notas variando entre 'gostei ligeiramente (5,00) e 'gostei moderadamente' (6,00), indicando que amostras que continham maior concentração de suco de goiaba foram mais aceitas em relação aos atributos de sabor, cor e aparência. De uma maneira geral, o sabor e a aparência constituem os principais atributos que consumidores buscam ao consumir alimentos (ASP, 1999). Neste estudo, observou-se correlação significativa entre sabor e aroma ($r = 0,742$, $p < 0,05$), aceitação ($r = 0,820$, $p < 0,05$), aparência ($r = 0,828$, $p < 0,05$) e acidez ($r = 0,843$, $p < 0,05$).

Luckow e Delahunty (2004) afirmam que provadores julgam a aceitação de um produto baseado no sabor ao invés de outras características como os benefícios para a saúde. Na verdade, sabor é de extrema importância para alimentos funcionais, especialmente para os elaborados com produtos de soja, que normalmente apresentam sabor adstringente e aroma desagradável. Portanto, o desenvolvimento de emulsões contendo goiaba, oligofrutose e soja, com sabor apreciado, poderia aumentar o consumo de tais ingredientes e assim maximizar a saúde e o bem-estar dos consumidores.

Segundo Cardello *et al.* (2000), o estudo do comportamento do consumidor tem se baseado em medidas afetivas, como a aceitação e a preferência do consumidor por determinado produto, além das variáveis comportamentais como as medidas de escolha, intenção de compra e consumo do produto. É necessário, entretanto, investigar não apenas a aceitação e preferência, mas também observar em quais critérios o consumidor se fundamenta para escolher, comprar e consumir determinado produto (GUERRERO *et al.*, 2000). Neste contexto, as correlações lineares entre os atributos sensoriais e comportamentais como sabor, aroma, acidez, aceitação, cremosidade, intenção de compra são essenciais para se estabelecer o grau de associação entre esses e estabelecer um perfil do público estudado (MINIM, 2006).

As amostras que continham maior concentração de extrato de soja apresentaram notas de cremosidade variando entre 5,00 e 6,00, mostrando que a concentração de sólidos provenientes do EHS em conjunto com o poder de textura da goma guar e carboximetilcelulose foram suficientes para oferecer textura agradável aos produtos finais. O termo 'cremosidade' geralmente atrai consumidores, sendo um atributo de qualidade ao paladar (TÁRREGA; COSTELL,

2006). A cremosidade está positivamente correlacionada com sabor ($r = 0,583$, $p \geq 0,05$), aparência ($r = 0,683$, $p < 0,05$) e aceitação ($r = 0,659$, $p < 0,05$).

A oligofrutose e outros oligosacarídeos e gomas são agentes espessantes, compostos capazes de reter moléculas de água formando uma rede geleificada, que é desejada em diversos produtos como sobremesas e emulsões alimentícias devido à melhora da sensação de cremosidade na cavidade oral (FRANCK, 2002). Em termos sensoriais, a cremosidade é uma percepção complexa e altamente integrada com as sensações de textura e aroma produzidas na boca e, assim, é um atributo crítico de qualidade para a aceitação de muitos produtos como molhos de salada, iogurtes, sorvetes, sobremesas e outros produtos emulsionados (RICHARDSON-HARMAN *et al.*, 2000).

As notas obtidas na escala hedônica podem ter sido afetadas por muitos fatores além da qualidade das formulações testadas, como a característica e expectativa dos provadores na hora da avaliação. A aceitação das emulsões pode estar também relacionada à subjetividade da avaliação. Na verdade, há subjetividade significativa em análise sensorial quando consumidores potenciais são usados como provadores e isso pode explicar o alto desvio padrão conjunto (CARDARELLI *et al.*, 2008).

A aceitação das emulsões variou de 4,35 a 6,00 quando os provadores utilizaram a escala hedônica estruturada em 7 pontos. Apenas a amostra F2 foi considerada inaceitável (nota 4,35). Ao contrário, as amostras F6 (6,00), F7 (5,96) e F8 (5,61) obtiveram as melhores notas para aceitação, evidenciando o potencial sensorial das emulsões desenvolvidas. A aceitação dos produtos foi correlacionada fortemente com o sabor ($r = 0,820$, $p < 0,05$), ao passo que a correlação entre aceitação e cor ($r = 0,396$, $p \geq 0,05$), com a acidez ($r = 0,609$, $p \geq 0,05$), e aparência ($r = 0,646$, $p \geq 0,05$) não mostrou ser tão intensa.

As propriedades da oligofrutose mencionadas por Roberfroid (2005), incluindo aumento de sabor, textura acentuada e leve doçura podem ter sido parcialmente responsáveis pelos altos escores de aceitação, cremosidade e sabor das amostras. Na verdade, a aceitação de produtos alimentícios não é o único parâmetro que as indústrias avaliam quando um novo produto é desenvolvido; outras características como sabor, doçura, brilho, aparência, sabor, cor e acidez também são checados com intuito de obter o grau de satisfação dos consumidores para o alimento (POPPER *et al.*, 2004). Então, a análise combinada de resultados sensoriais, físico-

químicos, reológicos e estatísticos é uma operação que pode levar a indústria a escolher uma amostra representativa, com propriedades adequadas para ser otimizada e então explorada comercialmente.

Análise sensorial de emulsões lácteas contendo frutas tropicais típicas do nordeste brasileiro como goiaba, manga, umbu, seriguela, graviola e mangaba mostraram escores dentro da faixa de aceitabilidade para sabor, textura, aroma e acidez, mostrando que quanto mais polpa de fruta utilizada nas amostras, maior a aceitação obtida (ROCHA *et al.*, 2005). A mesma tendência foi observada nas amostras elaboradas com extrato de soja e suco de goiaba: quanto mais suco utilizado, melhor os escores sensoriais e de aceitação obtidos. Engelen *et al.* (2003) avaliaram a incorporação de óleo e proteína de soja em emulsões consumidas como creme de recheio de sonhos e rosquinhas observando boas notas de sabor e cremosidade naquelas que continham maior quantidade de lipídeos.

Walker (2002) avaliou os atributos sensoriais de sobremesa tipo *sherbet* de laranja, produto muito consumido na Europa e nos Estados Unidos, e encontraram valores hedônicos altos de aparência, cor e aceitação, mas notas inaceitáveis de cremosidade para as amostras que continham entre 3,25 e 6,25% de proteína texturizada de soja, provavelmente devido ao gosto adstringente nas emulsões. Sobremesas cremosas de chocolate e baunilha, contendo 2% de proteína de soja e goma guar como espessante apresentaram índices de aceitação superiores a 78% e escores sensoriais para sabor (6,85 - 8,31), aroma (7,30 - 8,20), cremosidade (7,5 - 8,50) e cor (7,60 - 8,30) quando foram submetidos ao teste afetivo usando uma escala hedônica de 9 pontos (CHAVES; MATTÉ; MENDONÇA, 2007). Harami, Saad e Castro (2008) avaliaram o emprego da inulina em emulsões doces de coco e verificaram que os tratamentos obtiveram aceitação variando de 7,56 - 8,00, usando escala hedônica de 9 pontos, sendo que as formulações contendo maior quantidade da fibra prebiótica obtiveram notas superiores. Emulsões elaboradas com soja orgânica e chocolate apresentaram bons escores de aceitação (6,25 - 7,25), superiores aos observados para as emulsões comerciais com soja convencional (VIEIRA *et al.*, 2008).

A adição de proteína de soja em alimentos contendo suco de frutas pode ser uma maneira conveniente de incluir os nutrientes presentes na soja e derivados na dieta regular. De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2003), o extrato hidrossolúvel de soja é uma boa fonte de fibras dietéticas,

ferro, tiamina, niacina, riboflavina e ácidos graxos insaturados. Além disso, o FDA (2008) recomenda ingestão diária de 25 gramas de proteína de soja com o intuito de reduzir o risco de doenças coronarianas e para diminuir os níveis de colesterol total e o LDL-colesterol no sangue. Assim, fica claro que a proteína de soja aumenta o valor nutritivo das emulsões, beneficiando as pessoas que mantêm uma dieta equilibrada e consomem produtos com a proteína de soja.

3.3.4 Índice de aceitação

Para aumentar as vendas e para inovar no campo do desenvolvimento de alimentos com apelo funcional é necessário se conhecer e medir o grau que os consumidores gostam e desgostam de um alimento, bem como sua preferência (MINIM, 2006). Além disso, as empresas se esforçam cada vez mais para entender o consumidor e os fatores que o impulsionam a comprar um determinado alimento. No campo da ciência sensorial, existem muitas técnicas e metodologias que empresas alimentícias podem utilizar para medir o grau de gostar de um alimento, sendo que o índice de aceitação é um dos mais utilizados (CAAR *et al.*, 2008).

Os índices de aceitação, ou seja, a porcentagem dos consumidores que atribuíram notas variando entre 5 (Gostei ligeiramente) e 7 (Gostei muito), variaram de 54,67% a 92,00%, sendo que a emulsão F6 (92,00%), 8 (89,30%) e F10 (88,00%) apresentaram os maiores índices. Já as amostras F1 (76,00%), F2 (54,67%) e F9 (72,00%) foram as menos aceitas pelos provadores (Figura 3.2).

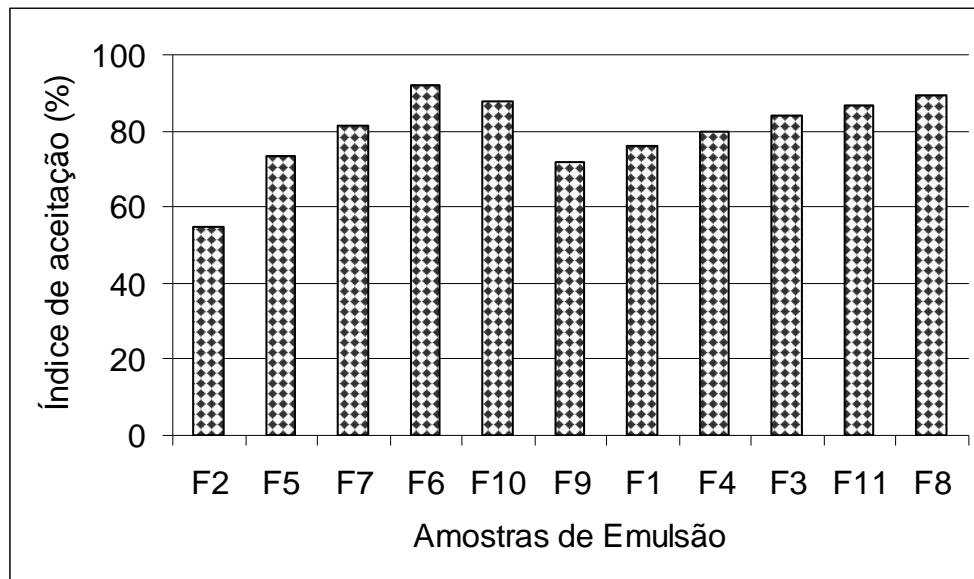


FIGURA 3.2- ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DAS AMOSTRAS DE EMULSÃO DE SOJA E GOIABA (n = 75).

Emulsão tipo gelado comestível de mirtilo selvagem desenvolvida com creme de soja e proteína texturizada (PTS) apresentou escores acima de 6,00 para os parâmetros de cor, sabor e textura e índice de aceitação de 73,70% (THE; DOUGHERTY; CAMIRE, 2005). Emulsão destituída de lactose elaborada com leite de coco, PTS e aromatizante de *cheesecake* apresentou 96,33% de aceitação e 82,57% de intenção de compra, mostrando que os consumidores estão aceitando mais em sua dieta alimentos contendo derivados de soja, não apenas pelo fato de eles serem saudáveis, mas também pelo sabor agradável que possuem (SOLER, 2005).

Cardarelli *et al.* (2008) desenvolveram queijos tipo *petit-suisse* simbióticos com adição de polpa de morango, bactérias probióticas, oligofrutose e inulina com aceitação variando de 6,16 a 7,34 usando escala hedônica de 9 pontos. Pinto *et al.* (2003) avaliaram duas sobremesas emulsionadas tipo mousse, adicionada de suco de maracujá ou chocolate, e observaram índices de aceitação na ordem de 79,20 e 79,30%, respectivamente. Emulsão à base de milho verde e creme de leite bovino, adicionado de inulina (7,5%) e oligofrutose (7,2%) apresentou escores hedônicos altos para aparência e sabor (7,00), cor e aroma (8,00) e cremosidade e intenção de compra (6,00), mostrando grande aceitação dos atributos sensoriais no produto (SOUZA; MIRANDA, 2008). Behrens, Roig e Silva (2004) desenvolveram produtos à

base de extrato hidrossolúvel de soja e aromatizantes e registraram escores adequados de aceitação, concluindo que é possível elaborar produtos à base de soja com altos índices de aceitação adicionando coadjuvantes de tecnologia como saborizantes, corantes e aromas para melhorar o aspecto geral dos produtos.

3.3.5 Ordenação de preferência

O teste de ordenação de preferência é usado para comparar três ou mais amostras, de acordo com a preferência individual de cada provador, e é particularmente a mais fácil maneira de se conduzir comparação entre essas amostras, gerando resultados ordinais, não medindo o grau de diferença entre as amostras, que são tratados com estatística não-paramétrica (LAWLESS; HEYMANN, 1999). Como havia 11 amostras, foi necessário 3 sessões de ordenação para se obter a amostra representativa, ou seja, a preferida pelos provadores. Como resultado das 3 sessões, 3 amostras foram separadas. Assim, realizou-se uma quarta sessão de ordenação para escolha da amostra preferida.

Para a análise dos resultados utilizou-se a seguinte premissa: amostras que dividem a mesma letra são iguais entre si a 5% de significância, sendo que os somatórios de ordenação maiores indicam maior preferência e baixos somatórios indicam menor preferência global das amostras. Assim na primeira sessão de ordenação (Figura 3.3), verificou-se que as amostras F6 e F7 foram as preferidas, sendo que a amostra F2 apresentou a menor soma de ordenação, indicando menor preferência. A análise de variância não-paramétrica de Friedman não revelou diferença significativa em preferência ($p > 0,05$) entre F6 e F7. Portanto se considerarmos que F6 possui maior índice de aceitação (92,00%) do que F7 (82,00%), conclui-se que F6 é a amostra mais bem aceita, sendo selecionada para ser reordenada na quarta sessão sensorial de ordenação.

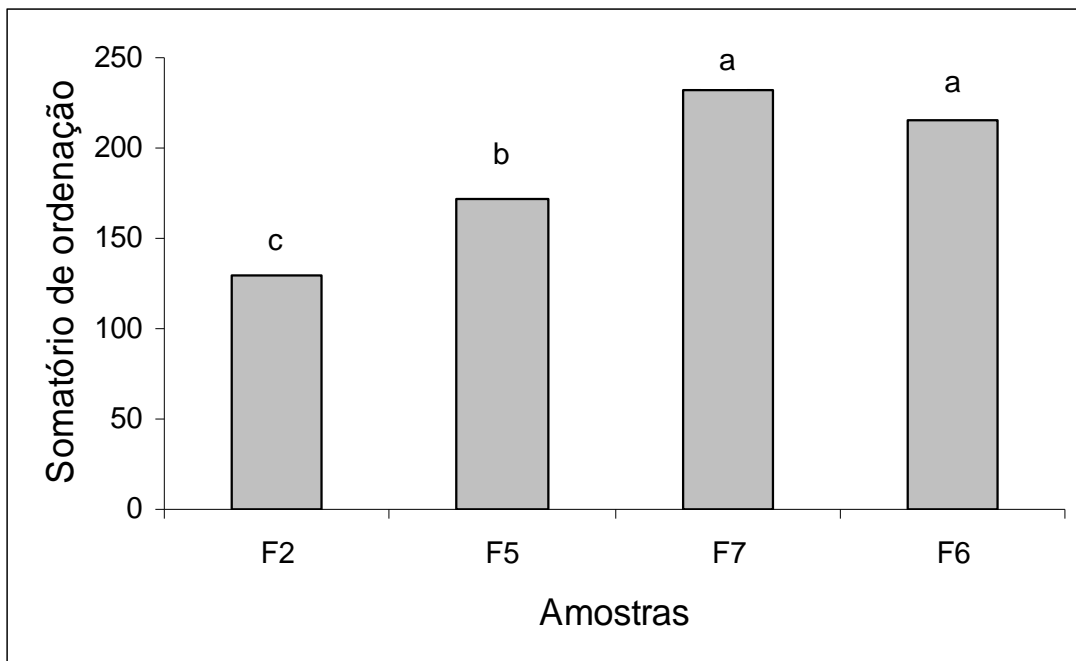


FIGURA 3.3- SOMATÓRIO DA PRIMEIRA SESSÃO DE ORDENAÇÃO (N = 75). F2= 22% SUCO GOIABA E 2% DE PROTEÍNA DE SOJA; F5= 27% SUCO GOIABA E 2% DE PROTEÍNA DE SOJA; F6= 27% SUCO GOIABA E 3% DE PROTEÍNA DE SOJA; F7= 32% SUCO GOIABA E 1% DE PROTEÍNA DE SOJA.

Com relação à segunda sessão de ordenação (Figura 3.4), o resultado da análise de variância não revelou diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras F1, F4, F9 e F10, mostrando que os produtos apresentam qualidade sensorial semelhante. A amostra F10 apresentou índice de aceitação de 88% e os maiores escores sabor, acidez, aparência e cremosidade comparada com as demais. Ao contrário, a formulação F9 apresentou os menores valores de sabor, aroma, acidez e índice de aceitação, ao passo que a emulsão F1 obteve os menores escores de cremosidade e aparência. Portanto, a amostra F10 foi considerada a mais bem aceita e com atributos sensoriais ideais, sendo selecionada para ser reordenada na quarta sessão de ordenação.

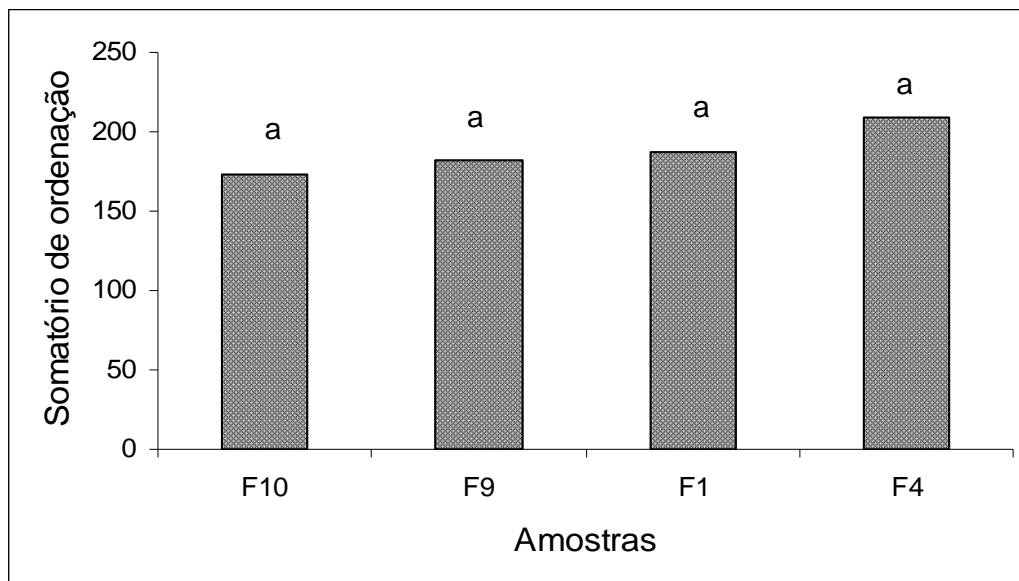


FIGURA 3.4- SOMATÓRIO DA SEGUNDA SESSÃO DE ORDENAÇÃO (n = 75). F1= 22% SUCO GOIABA E 1% PROTEÍNA DE SOJA; F4= 27% SUCO GOIABA E 1% PROTEÍNA DE SOJA; F9= 32% SUCO GOIABA E 3% PROTEÍNA DE SOJA; F10= 27% SUCO GOIABA E 2% PROTEÍNA DE SOJA.

O terceiro teste de ordenação mostrou que a formulação F8 (2% proteína e 32% suco de goiaba) apresentou o maior somatório de ordenação (181), indicando maior aceitação entre os provadores (Figura 3.5). Essa amostra também obteve o maior índice de aceitação e as melhores notas em todos os atributos sensoriais avaliados (Tabela 3.4), sendo então a amostra mais apropriada da sessão para ser reordenada no último teste de ordenação.

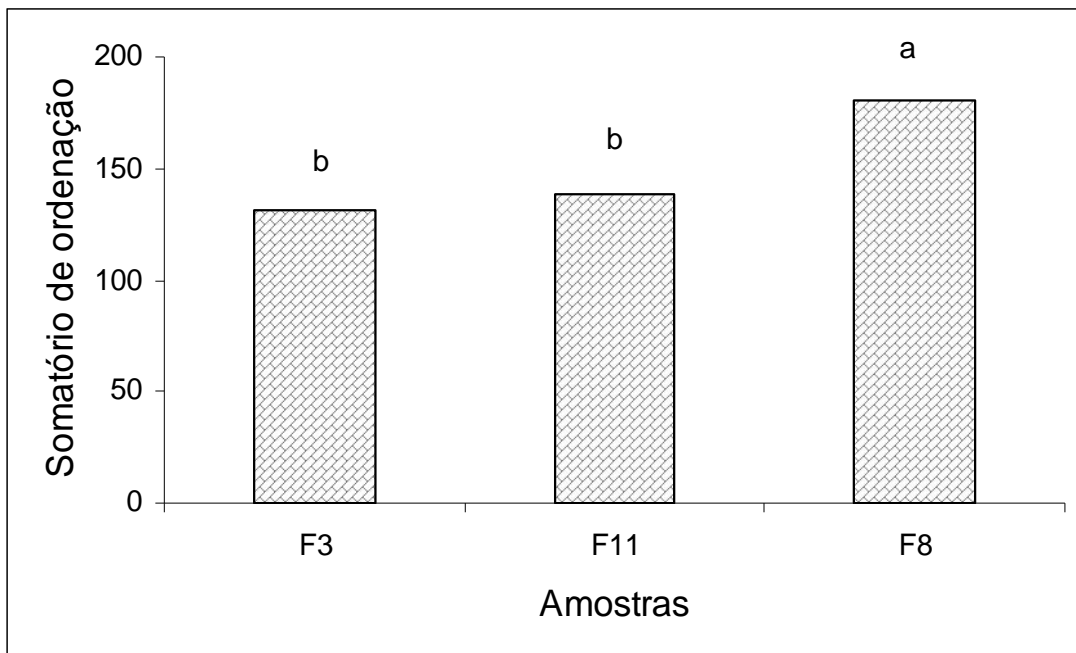


FIGURA 3.5- SOMATÓRIO DA TERCEIRA SESSÃO DE ORDENAÇÃO (n = 75). F3= 22% SUCO GOIABA E 3% PROTEÍNA DE SOJA; F8= 32% SUCO GOIABA E 2% PROTEÍNA DE SOJA; F11= 27% SUCO GOIABA E 2% PROTEÍNA DE SOJA.

O último teste de ordenação compreendeu as três amostras mais bem aceitas e com maiores notas nos atributos sensoriais (F6, F8 e F10) e os resultados estão mostrados na Figura 3.6. Verificou-se que não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) em preferência entre as amostras quando o teste de Friedman foi aplicado, indicando que a qualidade sensorial das amostras é semelhante. Entretanto, quando seus escores dos atributos sensoriais foram submetidos à ANOVA fatorial, verificou-se que a emulsão F10 obteve os menores valores de sabor, aparência, cor, cremosidade, aroma e aceitação comparado com as amostras F6 e F8, indicando menor preferência para tais atributos. Estatisticamente as amostras F6 e F8 são semelhantes em todos os parâmetros avaliados, entretanto a emulsão F8 apresentou maiores notas de acidez e sabor em relação a F6 e F10, além do maior somatório de ordenação (180). Portanto, a amostra F8 foi considerada a mais aceita e com melhores atributos sensoriais entre todas as emulsões avaliadas.

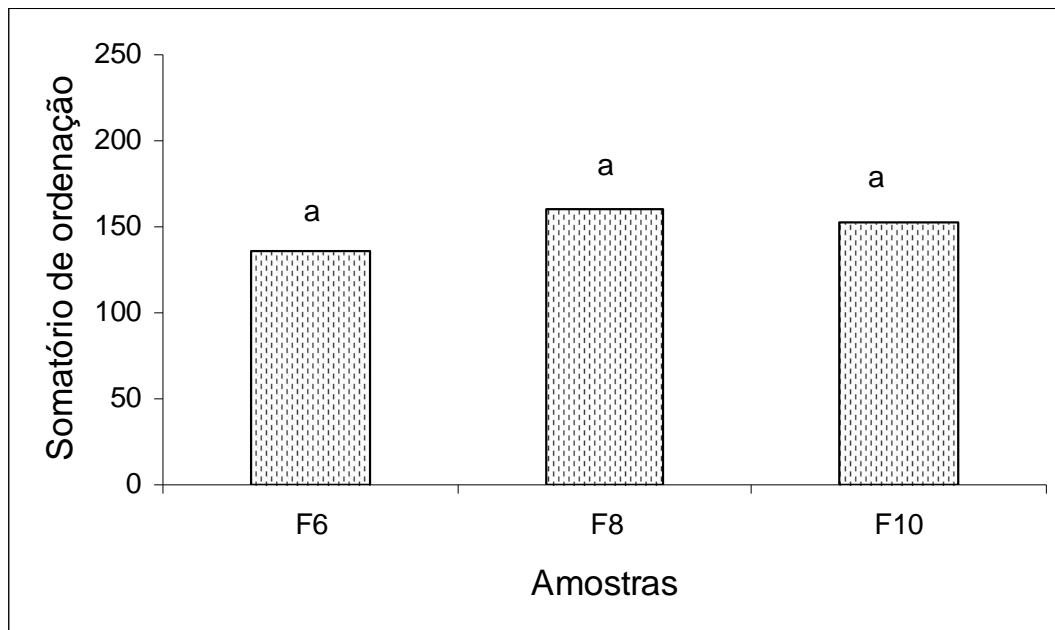


FIGURA 3.6- SOMATÓRIO DA ÚLTIMA SESSÃO DE ORDENAÇÃO (n = 75). F6= 27% SUCO GOIABA E 3% PROTEÍNA DE SOJA; F8= 32% SUCO GOIABA E 2% PROTEÍNA DE SOJA; F10= 27% SUCO GOIABA E 2% PROTEÍNA DE SOJA.

A amostra F8 foi elaborada com 32% de suco de goiaba, composto por fibras alimentares (TACO, 2006), antocianinas (MISR; SESHADRI, 1968), carotenóides bioativos como o licopeno, zeinoxantina, 5,8-epoxi- β -caroteno e β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN; KIMURA, 2007), ácido ascórbico, mircetina, apigenina e ácido elágico (MIEAN; MOHAMED, 2001; YAN; TENG; JI, 2006). Portanto, quanto mais suco de goiaba utilizado na formulação, maior a concentração de compostos bioativos estarão presentes nas amostras, o que é desejável em produtos industrializados no intuito de se obter produtos mais saudáveis e com apelo nutricional. Assim, a amostra F8 foi escolhida como a mais adequada de todas as outras, não apenas pelos escores e preferência sensorial, mas também pela sua capacidade de retenção de água e estabilidade refrigerada.

3.4 CONCLUSÕES

- As emulsões desenvolvidas neste estudo obtiveram escores acima de 5,00 (gostei ligeiramente) para a aparência, aroma, sabor e cremosidade;
- As amostras que continham pelo menos 2% de proteína de soja apresentaram boas notas de sabor, aroma e aceitação geral, indicando que emulsões à base de soja com sabor agradável podem ser desenvolvidas;
- Quanto mais suco de goiaba continha o produto, maior as notas de sabor, cor e cremosidade foram obtidas;
- De uma maneira geral, as amostras puderam ser consideradas estáveis fisicamente no período de 72 horas de refrigeração a 7 ± 1 °C por não haver sedimentação, inversão de fase e por reter a água livre no sistema;
- A emulsão elaborada com 32% de suco de goiaba e 2% de proteína de soja foi a amostra mais bem aceita pelos provadores pela obtenção simultânea de altos escores hedônicos de sabor, aceitação e cremosidade, parâmetros sensoriais fundamentais no tipo de produto desenvolvido;

TABELA 3.2- ESCALA HEDÔNICA DE 7 PONTOS PARA AS AMOSTRAS DE EMULSÃO DESENVOLVIDAS COM SUCO DE GOIABA, OLIGOFRUTOSE E PROTEÍNA DE SOJA.

AMOSTRAS	NÍVEIS REAIS		ACIDEZ	SABOR	APARÊNCIA	COR	CREMOSIDADE	AROMA	ACEITAÇÃO
	PS (%)	SG (%)							
PRIMEIRO TESTE DE ESCALA HEDÔNICA									
2	2,00	22	5,13	4,73 ^c	5,21 ^c	5,08 ^b	5,16 ^b	5,32 ^c	4,35 ^d
5	2,00	27	5,12	5,21 ^{b,c}	5,31 ^{b,c}	5,25 ^{a,b}	5,56 ^{a,b}	5,49 ^{b,c}	5,13 ^c
7	1,00	32	5,41	5,84 ^a	5,69 ^a	5,60 ^a	5,64 ^a	5,92 ^a	5,61 ^{a,b}
6	3,00	27	5,33	5,63 ^{a,b}	5,64 ^{a,b}	5,49 ^{a,b}	6,00 ^a	5,81 ^{a,b}	6,00 ^a
DPC ¹			1,34	1,43	1,16	1,13	1,26	1,17	1,45
p _{amostra} (Hartley)			0,69	0,21	0,85	0,91	0,06	0,86	0,18
p _{amostra} (ANOVA)			0,08	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p _{provaadores} (Hartley)			0,99	0,27	0,95	1,00	0,65	1,00	0,90
p _{provaadores} (ANOVA)			< 0,001	0,003	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,008
SEGUNDO TESTE DE ESCALA HEDÔNICA									
10	2,00	27	5,41 ^a	5,52 ^a	5,28	4,80	5,65 ^a	5,19	5,45
9	3,00	32	4,84 ^b	4,82 ^b	5,19	5,00	5,58 ^a	4,95	5,20
1	1,00	22	5,03 ^{a,b}	5,15 ^{a,b}	5,07	5,01	4,84 ^b	5,05	5,21
4	1,00	27	5,11 ^{a,b}	5,20 ^{a,b}	5,16	5,05	5,09 ^b	5,28	5,48
DPC ¹			1,32	1,41	1,22	1,20	1,29	1,33	1,33
p _{amostra} (Hartley)			0,76	0,12	0,78	0,62	0,69	0,67	0,26
p _{amostra} (ANOVA)			0,02	0,002	0,53	0,46	< 0,001	0,11	0,30
p _{provaadores} (Hartley)			0,46	0,99	0,74	1,00	0,96	0,97	0,13
p _{provaadores} (ANOVA)			< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
TERCEIRO TESTE DE ESCALA HEDÔNICA									
3	3,00	22	5,28	5,25	5,19	4,99 ^b	5,87	5,55	5,56
11	2,00	27	5,33	5,33	5,31	5,16 ^{a,b}	5,72	5,39	5,60
8	2,00	32	5,59	5,75	5,49	5,27 ^a	5,92	5,67	5,96
DPC ¹			1,41	1,58	1,31	1,25	1,23	1,42	1,24
p _{amostra} (Hartley)			0,88	0,57	0,98	0,66	0,36	0,76	0,19
p _{amostra} (ANOVA)			0,15	0,06	0,09	0,04	0,33	0,25	0,06
p _{provaadores} (Hartley)			1,00	0,56	1,00	1,00	1,00	0,96	0,99
p _{provaadores} (ANOVA)			< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,003
COMPARAÇÃO DAS TRÊS MELHORES AMOSTRAS									
F10	2,00	27	5,39	5,52	5,28	4,80 ^b	5,65	5,19 ^b	5,46 ^b
F6	3,00	27	5,33	5,63	5,64	5,49 ^a	6,00	5,81 ^a	6,00 ^a
F8	2,00	32	5,59	5,75	5,49	5,27 ^{a,b}	5,92	5,67 ^{a,b}	5,96 ^{a,b}
DPC ¹			1,32	1,36	1,24	1,27	1,12	1,28	1,27
p _{amostra} (Hartley)			0,56	0,50	0,38	0,44	0,78	0,12	0,27
p _{amostra} (ANOVA)			0,47	0,60	0,19	0,003	0,19	0,01	0,02

p _{prova} dores (Hartley)	0,98	0,89	0,99	0,99	0,95	0,92	0,84
p _{prova} dores (ANOVA)	0,51	0,60	0,29	0,68	1,00	0,55	0,99

NOTA: ¹Desvio padrão conjunto (n = 75); SG= suco de goiaba; PS= proteína de soja; Letras diferentes na mesma coluna representam resultados diferentes de acordo com o teste de Tukey (p < 0,05).

CAPÍTULO 4

VIABILIDADE DE UMA EMULSÃO DE GOIABA E SOJA SOB ARMAZENAMENTO REFRIGERADO POR 60 DIAS

RESUMO

Quando se desenvolve uma formulação, as caracterizações físico-químicas, sensoriais e microbiológicas são importantes, mas o estudo da estabilidade desses parâmetros por um determinado tempo é essencial para lançá-lo no mercado. Assim, objetivou-se a avaliação de parâmetros físico-químicos, físicos, cromáticos, microbiológicos e sensoriais de uma emulsão elaborada com soja e suco de goiaba por 60 dias de estocagem refrigerada a $7 \pm 1^\circ\text{C}$. Acidez titulável, pH, cor instrumental baseada nos parâmetros de cor vermelha (a^*), cor amarela (b^*), luminosidade (L^*), tonalidade (h^*) e intensidade de cor (C^*), além de atividade de água, vitamina C e estabilidade física da amostra foram mensurados, enquanto que provadores ($n = 50$) da comunidade universitária usaram uma escala hedônica para analisar a aceitação, intenção de compra, cremosidade, aroma, sabor, acidez, cor e aparência da emulsão em um período de 60 dias. O controle microbiológico da emulsão foi acompanhado em relação à contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella sp.*, bolores e leveduras durante o armazenamento. Os dados foram submetidos ao teste de Hartley e, em seguida, ANOVA fatorial seguido do teste de Tukey ($\alpha < 0,05$) foi aplicado para detectar diferenças entre os atributos sensoriais avaliados, ao passo que ANOVA para medidas repetidas foi utilizada para comparações entre os dados hedônicos. Os resultados mostraram que os parâmetros avaliados diferiram significativamente ($p < 0,05$) desde o início do armazenamento, podendo ser ajustados às equações matemáticas com coeficientes de determinação acima de 74%, considerando-os próprios para fins preditivos. A degradação de cor instrumental foi modulada satisfatoriamente em modelos cinéticos de primeira ordem com índices de determinação acima de 75%. Cremosidade e aceitação global da amostra não sofreram alteração significativa nos 60 dias avaliados, e o sabor, aroma e acidez mantiveram notas dentro da faixa de aceitabilidade. Não obstante, a amostra apresentou boa estabilidade física e conteúdo de cobre, ferro e vitamina C acima de 15% dos valores diários recomendados pela legislação brasileira. A estimativa de vida de prateleira para o produto levando em consideração a intenção de compra, índice de aceitação e aceitação global foi de 79 dias.

Palavras-chave: Vida de prateleira. Degradação de cor. Estabilidade.

ABSTRACT

When a new product is developed, the physicochemical, sensory and microbiological evaluations are important, but the stability study of such parameters along the time is essential to launch them in the marketplace. This work aimed at the evaluation of the physicochemical, physical, chromatic, microbiological and sensory stability of a non-dairy emulsion elaborated with soy and guava juice during 60 days of refrigerated storage at $7 \pm 1^\circ\text{C}$. Titrable acidity, pH, instrumental color based on redness (a^*), yellowness (b^*), chromaticity (C^*), hue angle (h^*), water activity, ascorbic acid and physical stability of the sample were measured, whereas panelists ($n = 50$) from the campus community used an hedonic scale to assess acceptance, purchase intent, creaminess, flavor, taste, acidity, color and overall appearance of the dessert in a period of 60 days. Microbiological control of the emulsion was carried by means of the counts of coliforms at 35°C , thermotolerant coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella sp.*, molds and yeasts during the shelf-life evaluation. The results were submitted to the Hartley's test, and secondly factorial ANOVA and Tukey's test were applied ($\alpha < 0.05$) to verify contrasts in the sensory parameters among the samples, whereas ANOVA for repeated measures was applied to the physicochemical and chromatic data. The data showed that the parameters differed significantly ($p < 0.05$) from the initial time evaluated and they could be fitted in mathematical equations with determination coefficient above 74%. Color degradation was modeled and the data were satisfactorily fitted in first-order kinetic models, presenting coefficients of determination above 75%. Creaminess and acceptance did not differ statistically in 60 days and taste, flavor and acidity kept suitable hedonic scores during storage. Notwithstanding, the sample presented good physical stability against gravity and presented more than 15% of the Brazilian Daily Recommended Value of copper, iron and ascorbic acid. The product estimated shelf-life time was attained to be 79 days, considering overall acceptance, acceptance index and purchase intent.

Keywords: Shelf-life. Emulsions. Color degradation. Stability.

CAPÍTULO 4

4 VIABILIDADE DE UMA EMULSÃO DE GOIABA E SOJA SOB ARMAZENAMENTO REFRIGERADO POR 60 DIAS

4.1 INTRODUÇÃO

Poucas emulsões alimentícias comercializadas como sobremesas são destituídas de lactose. O desenvolvimento de produtos sem lactose é necessário para que haja no mercado novas opções de consumo para os intolerantes. A prevalência de deficiência de lactase em adultos na população mundial chega a 75%, enquanto que na Inglaterra 5%, na Finlândia 18%, no México 55% e nos países orientais como a China e Japão, a intolerância chega a 95% da população adulta (ALM, 2002). Fica evidente a necessidade de desenvolver novos produtos para tais consumidores e, nesse panorama, o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) é uma opção saudável e barata em relação ao leite bovino. O EHS possui cerca de 40% de proteína com adequado perfil de aminoácidos (IWE *et al.*, 2001), alto conteúdo de fibras, magnésio, ferro e ácido fólico (USDA, 2003) e também contém isoflavonas bioativas (WANG; YU; SHOU, 2006).

Sobremesas em forma de emulsões, com vida de prateleira média, apresentam importante crescimento nos últimos anos. Os ingredientes inovadores e os sistemas tecnológicos aplicados nas fábricas têm proporcionado novas alternativas às sobremesas com base não láctea, permitindo a produção de sobremesas com novos sabores e adição de ingredientes funcionais como inulina e oligofrutose (SAAD *et al.*, 2008). De maneira geral, esses produtos são complexos e sua estabilidade depende muito da tecnologia de fabricação, das características intrínsecas de cada produto e da estocagem sob condições refrigeradas (NUNES *et al.*, 1998). O processo de fabricação de emulsões alimentícias é constituído basicamente das etapas de mistura dos ingredientes, tratamento térmico para solubilização da proteína, homogeneização, resfriamento parcial e estocagem sob

refrigeração que permite a estabilização da rede entre proteínas e gorduras presentes no produto (PENNA; NIKAEDO; AMARAL, 2004).

Frutas e hortaliças são ricas em componentes funcionais como minerais essenciais, vitaminas e fitoquímicos como os flavonóides, além de possuírem grande aceitabilidade sensorial por parte das pessoas. Neste contexto, pesquisas mostraram que diversas hortaliças (LUCKOW; DELAHUNTY, 2006), frutas (YOON; WOODANS; HANG, 2004) e cereais (ANGELOV *et al.*, 2006) são ingredientes com potencial para desenvolvimento de novos produtos diferenciados, sem lactose, e com funcionalidade. Portanto, sobremesas contendo sucos de fruta têm sido sugeridas como meios adequados para incorporação de compostos químicos com ação prebiótica e mesmo microorganismos probióticos (TUORILA; CARDELLO, 2002).

Sobremesas à base de soja misturadas com sucos de frutas são a nova geração de produtos do gênero, sendo uma maneira conveniente para incluir a proteína de soja na dieta básica (SOLER, 2005; POTTER *et al.*, 2007), além de serem alternativas para os consumidores portadores da intolerância parcial ou total à lactose. A venda de bebidas e sobremesas formuladas com soja, nos Estados Unidos, dobrou desde o ano 2000, tornando esses produtos uma importante categoria no mercado, acumulando vendas maiores de US\$ 100 milhões anualmente (BEVERAGE MARKETING CORPORATION OF NEW YORK, 2005). No Brasil, o consumo de produtos à base de soja cresceu gradualmente nos últimos anos, com venda de 51 milhões de quilos em 2002 para 110,5 milhões em 2005 (ABIA, 2008). Esse aumento no consumo de produtos à base de soja prontos para consumo deve-se à demanda do consumidor por produtos saudáveis e práticos, às novas tecnologias de produção que permitem obter produtos com melhores características sensoriais e à oferta constante de produtos com sabores diferenciados.

Quando se desenvolve uma formulação, as caracterizações físico-químicas, sensoriais e microbiológicas são importantes, mas o estudo da estabilidade desses parâmetros por um determinado tempo é essencial para lançá-lo no mercado (MINIM, 2006). A vida de prateleira ou vida comercial de um alimento é definida como o tempo em que o produto, conservado em determinadas condições de temperatura, apresenta alterações que são, até certo ponto, consideradas aceitáveis pelo fabricante, pelo consumidor e pela legislação alimentar vigente (VITALI; QUAST, 2004). É também definida como o tempo decorrido entre a produção e a

embalagem do produto até o ponto que este se torna inaceitável ao consumo (LEWIS; DALE, 1996).

A determinação da vida de prateleira não é uma tarefa fácil e de resultado preciso. Contudo, é sempre útil ter o máximo de informações sobre o alimento a ser conservado, conhecendo-se de preferência o mecanismo e a cinética das principais reações de deterioração (MOURA *et al.*, 2007). Inicialmente são identificadas quais são as características dos ingredientes, as condições de processos e de estocagem que poderão influenciar na qualidade do produto estudado. A seguir, os parâmetros de processo são monitorados e controlados tornando possível a determinação do tempo de vida de prateleira, ou seja, o momento em que o produto não é mais seguro para o consumo (ELLIS, 1996). A vida comercial de um produto é informação estratégica de uma empresa, que pode gerenciar melhor sua distribuição e informar, de forma mais adequada, as condições de sua conservação aos consumidores, sendo, uma etapa essencial no desenvolvimento de produtos (MANZOCCO; LAGAZIO, 2009).

Apesar de haver alguns produtos com extrato de soja no mercado, no Brasil há pouca variedade, não havendo sequer uma amostra de emulsão destituída de lactose no varejo adicionada de suco de frutas tropicais. Verifica-se a escassez de trabalhos dedicados ao estudo de novos produtos sem base láctea na literatura brasileira. Sendo assim, mais pesquisas devem ser realizadas para desenvolver e estudar a aceitação de alimentos funcionais, bem como sua viabilidade após armazenamento sob condições controladas.

No capítulo 2 otimizou-se o processo de desenvolvimento de uma emulsão com características físico-químicas e colorimétricas, obtendo-se uma formulação otimizada misturando 32% de suco de goiaba e 1,17% de proteína de soja. Já no capítulo 3, verificou-se que a formulação que continha 32% de suco de goiaba e 2% de proteína de soja apresentou os melhores escores para os atributos sensoriais e índice de aceitação acima de 70%. Para se obter a amostra representativa do experimento, utilizou-se de um teste discriminativo entre essas duas amostras. Assim, foi objetivo desta pesquisa estudar a composição físico-química e mineral da amostra representativa, avaliando sua estabilidade físico-química, sensorial, física, microbiológica e cromática de por um período de 60 dias de armazenamento refrigerado.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Elaboração da amostra

As matérias-primas empregadas para produção de 100 g das amostras foram: sacarose comercial (14 g/100 g), sulfato ferroso (0,0104 g/100 g), creme de soja UHT (18,67% lipídeos totais; 40 g/100 g), mistura de emulsificantes (mistura comercial: polisorbato 60, monoglicerídeos destilados e monoesterato sorbitano; 1 g/100 g), estabilizantes goma guar e carboximetilcelulose (1:1; 1 g/100 g), oligofrutose padrão alimentar (95% pureza; 2,63 g/100 g), aroma idêntico ao natural de goiaba (0,15 g/100 g), suco de goiaba em pó (2,10 g/100 g), benzoato de sódio (0,001 g/100 g), suco de goiaba (32 g/100 g) e extrato hidrossolúvel de soja em pó (5 g/100 g para a formulação contendo 2% de proteína e 2,93 g/100 g para a formulação com 1,17% de proteína). Água mineral foi usada para completar 100 g.

Para a produção das amostras foi seguido o fluxograma (Figura 2.1) contido no Capítulo 2. O conteúdo de cada formulação (3,5 kg) foi disposto em um total de 14 potes polipropileno branco, com capacidade para 250 gramas. Os recipientes foram hermeticamente fechados e mantidos a uma temperatura média de 7°C, em refrigerador doméstico, para análises posteriores.

4.2.2 Análise sensorial inicial

Inicialmente, para se obter a amostra representativa do experimento, comparou-se as amostras oriundas da otimização físico-química e cromática (capítulo 2) e da avaliação sensorial (capítulo 3). Utilizou-se o teste triangular para verificar a existência de diferenças significativas. Não obstante, o teste afetivo de aceitação de atributos foi utilizado para avaliar a qualidade sensorial das amostras, sendo uma ferramenta auxiliar na tomada de decisão da emulsão mais adequada deste trabalho.

4.2.2.1 Teste triangular

O objetivo do teste triangular foi o de observar a existência ou não de diferenças estatísticas significativas entre as duas amostras de emulsão à base de

soja. Para isso, cada provador recebeu três amostras codificadas, sendo informados que duas amostras são iguais e uma diferente. Em seguida os provadores foram solicitados a provar as amostras da esquerda para a direita e identificar a diferente, de acordo com a NBR 12995 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993). Utilizaram-se 50 provadores não treinados que declaram consumir produtos contendo soja, pelo menos uma vez por semana. Água mineral e biscoito salgado foram distribuídos para limpeza do palato. O teste foi efetuado em cabines individuais, com luz branca e temperatura de 20°C.

4.2.2.2 Teste afetivo de aceitação de atributos

Para análise sensorial das amostras, utilizou-se também o teste afetivo para verificar contrastes nos atributos de cor, sabor, cremosidade, aroma, aparência geral, aceitação global e acidez. Para isso, usou-se uma escala hedônica de sete pontos estruturados variando de 1 = 'Desgostei muito' a 7 = 'Gostei muito' (LAWLESS; HEYMANN, 1999).

4.2.3 Caracterização da amostra representativa

Inicialmente a amostra foi caracterizada de acordo com sua composição básica, de modo que as seguintes metodologias do Instituto Adolf Lutz (2005) foram utilizadas: fibra alimentar total foi determinada pelo método enzimático-gravimétrico (método 045/IV), minerais fixos por incineração em mufla por 8 horas a 560°C (método 018/IV), lipídeos totais pelo método de Gerber (método 322/IV), carboidratos totais pelo método de Somogy-Nelson (métodos 038, 039 e 040/IV), proteína total (N x 6,25) pelo método de micro-Kjeldahl (método 036/IV), teor de umidade por gravimetria a 105°C durante 24 h em estufa até peso constante (método 012/IV). O valor calórico médio foi calculado a partir dos fatores de Atwater (4 kcal para carboidratos e proteínas, 9 kcal para lipídeos totais e 1,6 kcal para oligofrutose). A oligofrutose foi determinada por cálculos teóricos, considerando a concentração adicionada na formulação, sendo o grau de pureza certificado pela Orafit utilizando o método 997.08 da AOAC (2005).

As determinações de cálcio, ferro, potássio, zinco, cobre, magnésio, sódio, fósforo e manganês da emulsão representativa foram realizadas de acordo com os procedimentos citados no item 2.2.4.3 do Capítulo 2.

4.2.4 Estabilidade físico-química

O estudo da estabilidade físico-química da amostra representativa foi realizado nos tempos $t = 1$, $t = 10$, $t = 20$, $t = 40$ e $t = 60$ dias após emulsificação, no intuito de avaliar o comportamento dos parâmetros em relação ao armazenamento refrigerado. Após homogeneização, os valores de pH, acidez titulável, vitamina C e atividade de água foram determinados de acordo com as metodologias propostas no Capítulo 2.

4.2.5 Estabilidade física

A estabilidade física da emulsão foi analisada por 60 dias nos tempos $t = 1$, $t = 10$, $t = 20$, $t = 40$ e $t = 60$ dias após emulsificação, determinando-se a capacidade de retenção de água (CRA) e o índice de sedimentação (IS), seguindo os procedimentos preconizados no Capítulo 3.

4.2.6 Estabilidade cromática

É importante o estudo da alteração cor em alimentos estocados uma vez que a retenção de cor durante o armazenamento é um dos mais importantes atributos de qualidade de alimentos, especialmente os desenvolvidos com frutas. A cor instrumental da emulsão foi determinada de acordo com o item 2.2.4.5 do Capítulo 2.

O parâmetro ΔE , definido como diferença visível de cor, foi medido entre o momento inicial (dia 1) e os dias 10, 20, 40 e 60, a partir dos parâmetros iniciais e finais de a^* , b^* e L^* , usando a Equação 4.1 de Hunter-Scottfield:

$$\Delta E = (\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2} + \Delta L^{*2})^{1/2} \quad (4.1)$$

4.2.7 Desenvolvimento dos modelos cinéticos

Os modelos cinéticos de degradação de cor e do teor de vitamina C foram desenvolvidos usando procedimento de dois passos, de acordo com Cullen *et al.* (2008). As constantes de reação foram determinadas ajustando os resultados experimentais no modelo cinético de primeira ordem, de acordo com a Equação 4.2:

$$C = C_0 e^{kt} \quad (4.2)$$

onde C é o parâmetro avaliado em um dado tempo (t), C_0 é o valor inicial do parâmetro e k é a constante da reação. No segundo passo, as constantes da reação foram modeladas em função do tempo de refrigeração, obtendo-se assim as funções e os coeficientes de determinação. A modelagem foi considerada significativa em um nível de probabilidade de 95% de confiança.

A meia vida ($t_{1/2}$) é um termo independente do modelo que descreve o tempo em que um atributo leva para diminuir 50% do seu valor inicial, sendo calculado usando a constante cinética (k) e a Equação 4.3 preconizada por Zhang *et al.* (2008):

$$t_{1/2} = 0,693k^{-1} \quad (4.3)$$

4.2.8 Estabilidade microbiológica

Para as análises microbiológicas nos tempos $t = 1$, $t = 20$, $t = 40$ e $t = 60$ dias, uma alíquota de 25 gramas de amostra foi adicionada a 225 mL de água peptonada 0,1% e homogeneizada por 1 minuto. Alíquotas foram diluídas serialmente (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) em tubos contendo água peptonada e então plaqueadas. A amostra foi investigada em relação a coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* sp e contagem total de bolores e leveduras. Todas as análises foram efetuadas de acordo com os procedimentos propostos pela APHA (2001), sendo os resultados expressos pelo número mais provável (NMP/g) ou pelo total de unidades formadoras de colônia (UFC/g).

4.2.9 Análise sensorial

A análise sensorial é um fator limitante para determinar o limite de aceitabilidade e, portanto, a vida de prateleira do alimento (CAAR *et al.*, 2008). Na verdade, a análise sensorial é crítica em testes de estabilidade uma vez que o produto pode ser rejeitado pelos consumidores por apresentar propriedades sensoriais inaceitáveis muito antes de apresentar riscos microbiológicos ou concentrações baixas de nutrientes (MANZOCCO; LAGAZIO, 2009).

Para análise sensorial da amostra nos dias 1, 20, 40 e 60 após a elaboração da emulsão, utilizou-se o teste afetivo de aceitação de atributos para verificar contrastes em relação aos tempos avaliados na cor, sabor, cremosidade, aroma, aparência geral, aceitação global e acidez. Para isso, usou-se uma escala hedônica de sete pontos estruturados variando de 1 = 'Desgostei muito' a 7 = 'Gostei muito'. Analisou-se também a intenção de compra da amostra nos períodos de armazenamento, utilizando-se uma escala hedônica estruturada em cinco pontos: 1 = 'Certamente não compraria' a 5 = 'Certamente compraria', com o intuito de correlacionar os resultados com os atributos sensoriais (LAWLESS; HEYMANN, 1999).

Foram utilizados 50 provadores não-treinados (19 - 48 anos; 24 homens e 26 mulheres) que declaram consumir produtos contendo soja, pelo menos uma vez por semana. Antes de avaliarem, os provadores foram informados sobre a metodologia de cada método empregado. A amostra resfriada (7°C) foi servida em copos plásticos com colheres. Água mineral e biscoito salgado foram distribuídos para limpeza do palato. O teste foi efetuado em cabines individuais, com luz branca e temperatura de 20°C, entre 10 - 12h e 14 - 17h.

4.2.10 Análise estatística

Em relação ao teste triangular, para se estabelecer diferença estatística significativa entre as amostras, o número mínimo de respostas corretas é de 28, ou seja, se houver 28 ou menos respostas corretas, as amostras podem ser consideradas semelhantes estatisticamente ($p > 0,05$).

Os resultados das análises da escala hedônica e das análises físico-químicas foram inicialmente submetidos ao teste de Hartley para checar a homogeneidade

das variâncias adotando-se $\alpha > 0,01$. No segundo passo, ANOVA *for repeated measures* foi empregada para os parâmetros físico-químicos e cromáticos seguido do teste paramétrico de Tukey *Honest Significant Difference* (HSD) a 5% de significância. ANOVA fatorial também foi efetuada para avaliar os resultados de escala hedônica no intuito de determinar contrastes e efeitos principais entre os dias de análise ($n = 4$) e julgadores ($n = 50$), seguido do teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$) (MYERS; MONTGOMERY, 2002).

Os dados físico-químicos e cromáticos foram submetidos à análise de regressão (linear, quadrático, polinomial), sendo que a escolha do modelo de predição baseou-se na magnitude dos coeficientes de determinação (R^2). Correlações lineares de Pearson entre os parâmetros sensoriais e de cor instrumental foram efetuadas no intuito de analisar as associações representativas entre os dados.

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos pelo valor médio das replicatas. O desvio padrão conjunto para cada parâmetro também foi apresentado. Utilizou-se o programa Statistica 7.1 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA) para todas as análises estatísticas.

4.2.11 Estimativa da vida de prateleira

A partir dos resultados dos atributos sensoriais e de intenção de compra, os dados foram submetidos à regressão e interpolados no intuito de se determinar o tempo de vida útil do produto, em relação aos atributos sensoriais. Foram levados em consideração os atributos cujos coeficientes de correlações que mostraram ser significativos a 5% de probabilidade e com magnitude acima ou igual a 70%. Modelos matemáticos com coeficientes de determinação abaixo de 70% são considerados de baixa intensidade e não podem ser utilizados para fins preditivos (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Teste triangular e afetivo: escolha da amostra representativa

De acordo com a NBR 12995 (ABNT, 1993), para haver diferença estatística entre amostras no teste triangular quando se utiliza 50 provadores, o número de respostas corretas deve ser maior que 28. A análise do resultado mostrou um número de 32 respostas corretas, evidenciando diferença estatística entre as amostras contendo 1,17 e 2,00% de proteína de soja. Entretanto, o teste triangular não avalia o grau de diferença, nem caracteriza os atributos responsáveis pela diferença (DUTCOSKY, 2007). Assim, o teste afetivo de aceitação de atributos entre as amostras tornou-se uma ferramenta muito útil para a tomada de decisão e para comparação.

A amostra otimizada físico-quimicamente (32% suco de goiaba e 1,17% proteína de soja) e a amostra contendo 32% suco de goiaba e 2% proteína de soja foram submetidas ao teste afetivo usando a escala hedônica de sete pontos para avaliar qual seria a amostra representativa do experimento e verificou-se (Tabela 4.1) que a emulsão contendo 2% de proteína apresentou escore significativamente maior para atributos de aparência (5,22; $p = 0,004$), cor (5,18; $p < 0,001$) e aroma (5,73; $p = 0,044$), entretanto, os outros atributos não mostraram ser diferentes estatisticamente ($p > 0,05$) comparada com a emulsão preparada com 1,17% de proteína de soja. Assim, a emulsão formulada com 32% de suco de goiaba e 2,00% de proteína de soja mostrou ser a mais adequada e com perfil sensorial mais balanceado.

Este trabalho indica fortemente que emulsões alimentícias, destituídas de lactose, desenvolvidas com extrato hidrossolúvel de soja e suco de goiaba, com adição de sulfato ferroso e oligofrutose apresentam atributos sensoriais acima do requisito mínimo para serem consideradas aceitáveis pelos consumidores. Não obstante, a amostra desenvolvida com 2,00% de proteína de soja obteve os maiores escores para todos os atributos analisados, provando que mesmo concentrações maiores de soja não interferem negativamente na qualidade final dos produtos.

TABELA 4.1- ATRIBUTOS SENSORIAIS DAS AMOSTRAS CONTENDO 32% SUCO DE GOIABA E 1,17% E 2,0% DE PROTEÍNA DE SOJA.

Código real		Atributos Sensoriais						
SG (%)	PS (%)	Aparência	Cor	Acidez	Sabor	Creiosidade	Aroma	Aceitação
32	1,17	4,62 ^b	4,27 ^b	5,00	5,34	5,67	5,38 ^a	5,49
32	2,00	5,22 ^a	5,18 ^a	5,20	5,56	5,73	5,73 ^b	5,69
DPC ¹		1,09	1,28	1,21	1,00	1,02	1,08	0,90
p _{amostra} (Hartley)		0,32	0,21	0,58	0,11	0,61	0,81	0,68
p _{amostra} (ANOVA)		0,004	< 0,001	0,31	0,20	0,73	0,04	0,29
p _{julgador} (Hartley)		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
p _{julgador} (ANOVA)		0,07	0,02	0,02	0,01	0,06	0,002	0,44

NOTA: ¹Desvio padrão conjunto (n = 50); PS= proteína de soja; SG= suco de goiaba; Amostras com letras diferentes na mesma coluna são diferentes entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

4.3.2 Amostra representativa: composição centesimal e mineral

A amostra de emulsão composta por 2% proteína de soja e 32% suco goiaba apresentou 8,80 g (\pm 0,04)/100 g de lipídios totais, 3,34 g (\pm 0,03)/100 g de fibras alimentares totais, das quais 2,50 g/100 g é oligofrutose, 2,06 g (\pm 0,03)/100 g de proteínas, 0,66 g (\pm 0,003)/100 g de minerais fixos, 20,70 g (\pm 0,05)/100 g de carboidratos totais e um valor calórico médio de 174,24 kcal/100 g.

A Tabela 4.2 mostra que a emulsão apresentou adequado perfil de minerais e, de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2005), pode ser considerada fonte de ferro e cobre para consumidores com 19 ou mais anos de idade, por conter mais de 15% da VDR de minerais na porção de 100 gramas. A emulsão também apresentou boas quantidades de fósforo, zinco, magnésio, manganês e baixa quantidade de sódio, mineral que deve ser controlado na dieta de pessoas hipertensas. Alimentos contendo diversos minerais em quantidades a serem considerados fonte são opções motivadoras para consumidores que desejam aumentar a ingestão de tais minerais devido a alguma necessidade metabólica, aumentando sua saúde e bem estar (COZZOLINO, 2007).

TABELA 4.2- CONTEÚDO MINERAL MÉDIO (mg/100 g) DA AMOSTRA CONTENDO 32% SUCO DE GOIABA E 2% PROTEÍNA DE SOJA COMPARADA COM OUTRAS EMULSÕES COMERCIALIZADAS NO BRASIL COMO SOBREMESA.

Mineral	Emulsão soja		Sobremesa de chocolate e		VDR ²
	e goiaba	<i>Petit-suisse</i> ¹	soja ¹	Sobremesa de baunilha não láctea ¹	
Cálcio	68,41	731,00	15,08	0,90	1000
Ferro	2,13	0,10	1,48	0,08	14,00
Potássio	57,05	121,00	44,52	4,31	4700
Sódio	62,25	412,00	78,02	6,03	1500
Manganês	0,067	0,02	<0,01	<0,01	2,30
Cobre	0,14	0,01	0,13	<0,02	0,90
Fósforo	76,32	448,00	40,71	<0,01	700,00
Magnésio	16,24	27,00	13,35	<0,02	260,00
Zinco	0,36	2,70	0,27	<0,01	7,00

NOTA: ¹Retirado da tabela brasileira de composição de alimentos (TACO, 2006); ²VDR para adultos ≥ 19 anos de idade (BRASIL, 2005), com relação à emulsão de suco de goiaba (32%) e proteína de soja (2,00%).

Sabe-se que o extrato hidrossolúvel de soja é fonte de ferro e proteína (TACO, 2006), apresenta adequado perfil de aminoácidos (IWE et al., 2001) e, além disso, contém alto teor de fibras alimentares, magnésio, fósforo, riboflavina, tiamina, ácido fólico (USDA, 2003), isoflavonas bioativas (2 mg/g de proteína) como a daidzeína e ginesteína (WANG et al., 2006) e saponinas anticarcinogênicas (RAO; SUNG, 1995). Não obstante, o EHS pode ser adicionado em diversos alimentos para aumentar sua maciez, cremosidade, suculência e poder emulsificante (WALKER, 2002).

Comparando-se o conteúdo mineral da amostra desenvolvida neste trabalho com outras emulsões comercializadas no Brasil em forma de sobremesa (Tabela 4.2), verifica-se que a primeira apresenta maior quantidade de ferro e cobre do que as outras formulações, especialmente em relação à amostra de sobremesa de soja.

Emulsão de raiz de orquídea apresentou valores superiores de cálcio (130 mg/100 g), magnésio (39 mg/100 g), fósforo (139 mg/100 g) e zinco (0,80 mg/100 g) e menores teores de ferro (0,51 mg/100 g) e cobre (0,02 mg/100 g) em comparação com a emulsão de soja e goiaba (AYAR; SERT; AKBULUT, 2009). Izidoro et al (2008) elaboraram emulsões alimentícias contendo diferentes concentrações de banana verde e encontraram quantidades apreciáveis de minerais (mg/ 100 g): cálcio (6,61 - 10,65), fósforo (0,46 - 5,37), magnésio (9,0 - 10,54), potássio (78,11 -

95,85), ferro (0,57 - 0,64) e sódio (500,73 - 537,12), concluindo-se que quanto mais polpa de banana foi adicionada nas amostras, maior o teor de minerais quantificado. Bebida de soja e polpa de goiaba com adição de inulina apresentou 0,78 mg de vitamina C, 0,24 mg de ferro e 12,43 mg de cálcio em 100 mL (MENDONÇA *et al.*, 2007). Sobremesa emulsionada com banana capim cidreira apresentou 16,92% de carboidratos totais, 0,51% de proteínas, 0,13% de minerais fixos e 1,13% de lipídeos totais, valores inferiores em relação à emulsão desenvolvida neste estudo (SANTOS *et al.*, 2008).

Então, o desenvolvimento de alimentos contendo EHS, oligofrutose e suco de goiaba parece ser uma maneira oportuna e conveniente de incorporar proteína, fibras com efeitos prebióticos, minerais essenciais e carotenóides com atividade fisiológica na dieta regular.

4.3.3 Armazenamento refrigerado

4.3.3.1 Estabilidade físico-química

A Tabela 4.3 mostra que as variâncias foram homogêneas ($p > 0,05$), o que validou os resultados experimentais. Diferença significativa ($p < 0,001$) foi observada em todos os parâmetros físico-químicos, em relação ao tempo de refrigeração.

TABELA 4.3- PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS AVALIADOS NOS TEMPOS 1, 20, 40 E 60 DIAS APÓS PROCESSAMENTO.

DIAS	pH	ACIDEZ	VITAMINA C ¹	Aw
1	4,50 ^c	0,562 ^c	9,74 ^a	0,977 ^b
10	4,55 ^b	0,575 ^c	9,48 ^a	0,975 ^b
20	4,55 ^b	0,601 ^b	8,66 ^b	0,976 ^b
40	4,55 ^b	0,652 ^b	7,31 ^c	0,984 ^a
60	4,59 ^a	0,669 ^a	6,89 ^c	0,983 ^a
DPC ²	0,03	0,04	1,20	0,004
p (Hartley)	1,00	0,13	0,23	0,27
p (ANOVA)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

NOTA: ¹Expressa em mg/100 g; ²DPC = desvio padrão conjunto (n = 3); Letras diferentes na mesma coluna representam resultados significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

A vitamina C, presente em muitas frutas e derivados, é utilizada como acidulante e conservante em produtos industrializados. Em polpas de frutas congeladas como abacaxi, acerola, caju, laranja, goiaba e maracujá, o teor de vitamina C varia entre 17 - 530 mg/100 g, além de conterem considerável quantidade de compostos fenólicos totais (MEZADRI, 2008). O teor de vitamina C na emulsão variou de 9,74 a 6,89 mg/100 g, o que representa 21,64 e 15,31% do valor recomendado diário de ingestão (BRASIL, 2005), mostrando que mesmo após 60 dias de armazenamento, mostrou-se ser fonte de vitamina C. O modelo de regressão apresentou-se essencialmente linear, com coeficiente de determinação na ordem de 96,04% (Figura 4.1), provando que os valores experimentais se encaixaram muito bem no modelo proposto. De acordo com a Equação da reta, cerca de 0,05 mg de vitamina C é perdido por dia de estocagem. Segundo Carvalho (2005), a redução da vitamina C pode ser atribuída a reações de oxidação devido ao oxigênio presente no interior da embalagem (*head space*), bem como daquele dissolvido na emulsão, visto que essa passou pelo processo de aeração. A temperatura de armazenamento e a incidência de luz na embalagem também podem ter contribuído para a redução da vitamina C devido à hidrólise ou oxirredução (TEIXEIRA NETO; MOURA, 2004).

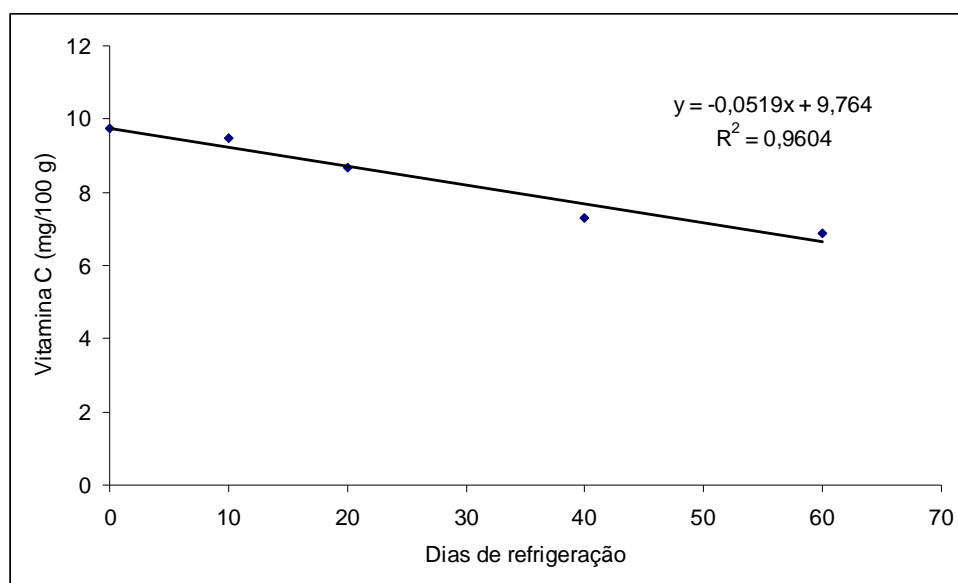


FIGURA 4.1- VALORES EXPERIMENTAIS DE VITAMINA C EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

A atividade de água variou significativamente ($p < 0,001$) de 0,977 a 0,984, sendo que nos primeiros 20 dias manteve-se estável, aumentando seu valor a partir do vigésimo dia. Este aumento pode ter sido oriundo do equilíbrio da embalagem com o meio externo e também devido ao fato da oligofrutose ser extremamente higroscópica (NINESS, 1999), o que faz com que a água livre aumente no sistema. Outra hipótese é que a embalagem utilizada (polipropileno) não proporcionou barreira adequada ao vapor de água, aumentando a quantidade de água livre no produto. Na indústria, a avaliação de atividade de água em alimentos, especialmente em estudos de vida de prateleira, se torna essencial uma vez que o parâmetro é utilizado para prever a estabilidade microbiológica e química no sistema avaliado (GABRIEL, 2008). Os resultados de atividade de água não puderam ser modelados, pois o coeficiente de determinação em todos os modelos matemáticos ajustados (polinomial, exponencial, linear e quadrático) não foram superiores a 50%.

O pH variou estatisticamente ($p < 0,001$) do primeiro (pH = 4,50) ao décimo dia (pH = 4,55) e manteve-se estável por 30 dias, sendo que no sexagésimo dia, o valor aumentou para 4,59. O modelo utilizado para os dados de pH foi o potencial (Figura 4.2), sendo que 85% dos resultados puderam ser ajustados pela equação.

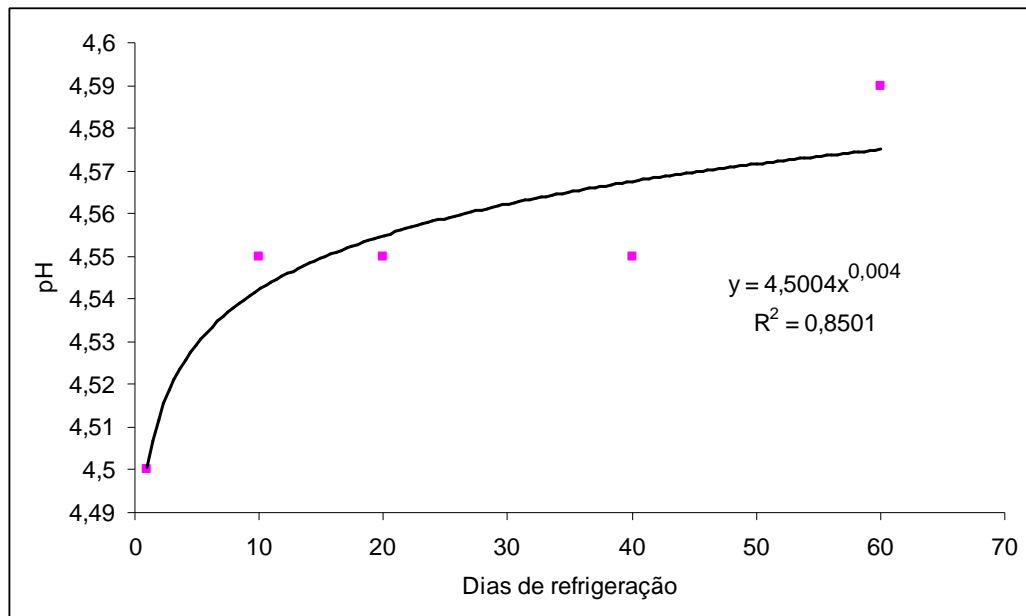


FIGURA 4.2: VALORES EXPERIMENTAIS DE PH EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

Produtos alimentícios com pH abaixo de 5,00 são desejáveis, uma vez que poucos são os microorganismos patogênicos capazes de se desenvolver e produzir toxinas. Nikaedo, Amaral e Penna (2004) elaboraram sobremesas à base de soro bovino e encontraram valores de pH entre 5,77 e 7,15, e em sobremesas com adição de suco de maracujá e substitutos de gordura, Dyminsky *et al.* (2000) verificaram que o pH oscilou de 4,20 a 4,80, dependendo da quantidade de suco incorporada no produto. Emulsões aeradas, com adição de suco de maracujá e goiaba, apresentaram valores superiores de pH (4,91 - 6,05) (BURITI; KOMATSU; SAAD, 2007) em relação à amostra contendo 2% de proteína de soja e 32% de suco de goiaba.

Os valores de acidez titulável aumentaram significativamente ($p < 0,001$) com o passar do tempo de armazenamento. O modelo matemático ajustado apresentou coeficiente de determinação na ordem de 96,81% (Figura 4.3), mostrando que a Equação proposta pode ser usada para fins preditivos no intervalo de tempo estudado. Existe a hipótese de que certos tipos de embalagens comerciais como o polipropileno e polietileno de baixa densidade podem aumentar a acidez do produto, por meio da hidratação do CO_2 com produção de HCO_3^- e H^+ (MORAES *et al.*, 2008). Outra possibilidade da tendência observada é o fato dos ácidos orgânicos terem hidrolizado as proteínas e lipídeos na amostra, gerando aminoácidos com caráter mais ácido em meio aquoso e ácidos graxos livres, respectivamente.

Saad *et al.* (2007) desenvolveram emulsões tipo sobremesa à base de cacau e chocolate com adição de inulina e verificaram que os parâmetros de atividade de água e acidez titulável das amostras não variaram ($p > 0,05$) nos 28 dias de armazenamento refrigerado. No estudo conduzido no capítulo 2 verificou-se correlação linear ($r = 0,473$) entre quantidade de suco de goiaba e acidez titulável de amostras de emulsões com goiaba e proteína de soja. Cruz, Granato e Masson (2008) avaliaram as características físico-químicas de 13 alimentos, incluindo sobremesas à base de suco de goiaba vermelha comercializados em Curitiba - PR - e verificaram que a acidez titulável das amostras variou de 0,205 - 0,735%, em ácido cítrico, o pH oscilou de 3,07 - 3,99 e a atividade de água variou de 0,975 - 0,999, indicando que dependendo do sistema, dos ingredientes e da tecnologia de fabricação, os parâmetros físico-químicos podem ser variados.

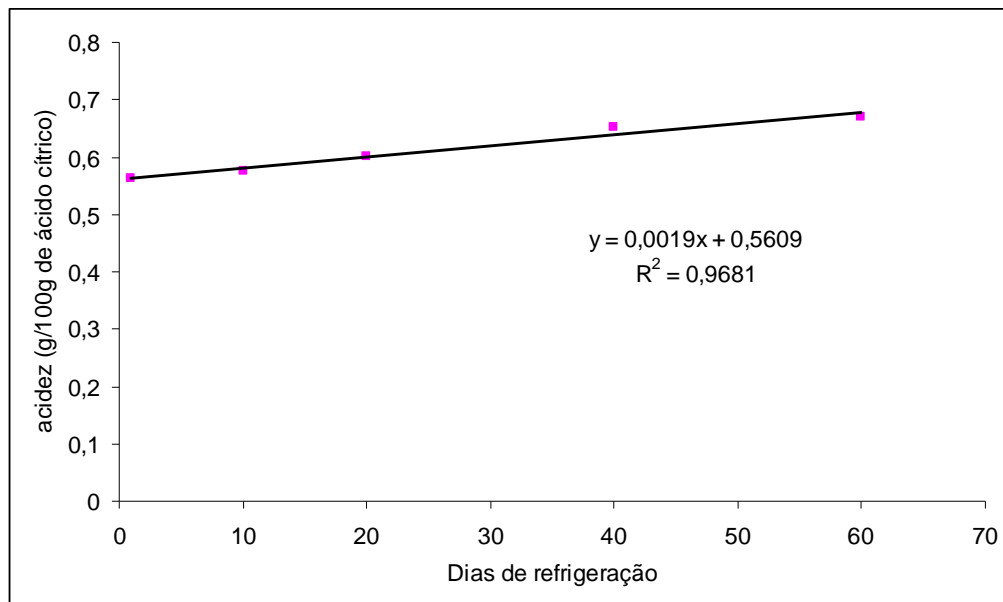


FIGURA 4.3- VALORES EXPERIMENTAIS DE ACIDEZ TITULÁVEL EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

4.3.3.2. Estabilidade física

A amostra de emulsão desenvolvida com soja, suco de goiaba e oligofrutose manteve-se estável nos 60 dias analisados, não havendo formação de sedimentos, separação de fases ou mesmo sinérese aparente, sendo que a capacidade de retenção de água da amostra foi 100% em todos os tempos de armazenamento, mostrando que a concentração de emulsificante foi suficiente para evitar desestabilização da rede entre proteína, lipídeos e água. No capítulo 3 avaliou-se a estabilidade física das emulsões testadas e foi observado que essas permaneceram estáveis por um período de 72 horas após o processo de emulsificação. Izidoro *et al.* (2008) desenvolveram emulsões a partir de polpa de banana verde e verificaram boa estabilidade física das amostras. Ayar, Sert e Akbulut (2009) concluíram que quanto maior a quantidade de raiz de orquídea presente em emulsões alimentícias, maior a estabilidade frente à capacidade de retenção de água devido ao conteúdo de glucomananos, compostos que absorvem cerca de 200 mL de água por grama.

Na prática, o armazenamento refrigerado promove o desenvolvimento de uma rede tridimensional entre as proteínas, aumentando as interações entre as partículas de proteína e lipídeos, retraindo maior quantidade de água e assim evitando a coalescência (ROMERO *et al.*, 2008). Não obstante, o mecanismo de

desestabilização da rede tridimensional está limitado as primeiras 48 horas após a emulsificação (PALAZOLO *et al.*, 2005). Gomas alimentícias como a carboximetilcelulose e goma guar são consideradas estabilizantes de emulsões por aumentar consideravelmente a estabilidade de sistemas emulsionados (GARTI; LESER, 2001). Os estabilizantes interagem com a proteína de soja, água, lipídeos e outros compostos minoritários, formando uma estrutura mais interligada, proporcionando maior viscosidade ao alimento e prevenindo a sinérese pela imobilização da água da matriz (VERBEKEN; THAS; DEWETTINCL, 2004).

4.3.3.3. Estabilidade cromática

Os parâmetros cromáticos foram avaliados em cinco datas distintas para que se pudesse obter uma curva com pelo menos quatro pontos, no intuito de estudar a perda total de cor da amostra (ΔE). Inicialmente, verificou-se que todas as variâncias entre os tratamentos foram homogêneas ($p > 0,01$) e diferenças estatísticas significativas ($p < 0,001$) foram observadas em todos os parâmetros de cor instrumental em relação ao tempo de armazenamento refrigerado (Tabela 4.4).

TABELA 4.4- COR INSTRUMENTAL DA EMULSÃO EM RELAÇÃO A 60 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

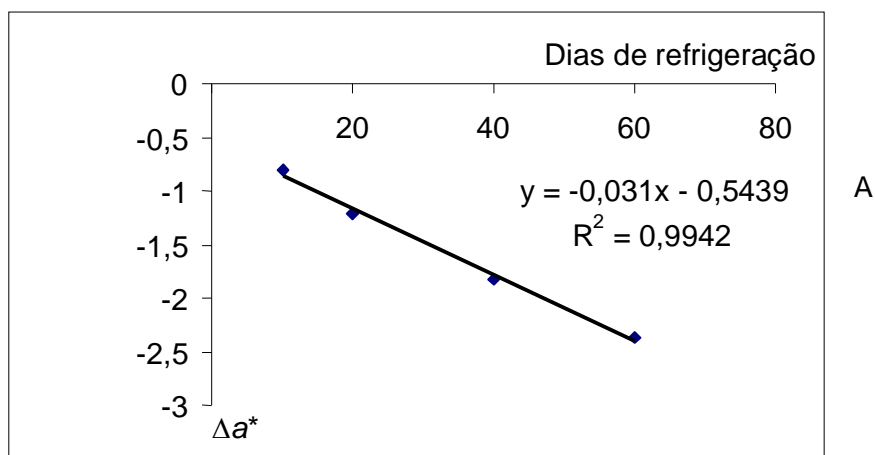
DIAS	L^{*1}	a^{*2}	b^{*3}	C^{*4}	h^{*5}
1	74,40 ^a	15,50 ^a	16,24 ^b	22,45 ^a	1,28 ^a
10	74,01 ^b	14,68 ^b	15,37 ^d	21,25 ^b	1,28 ^a
20	73,49 ^c	14,58 ^c	15,78 ^c	21,50 ^c	1,26 ^b
40	72,76 ^d	13,67 ^d	15,75 ^c	20,86 ^d	1,22 ^c
60	72,02 ^e	13,15 ^e	18,00 ^a	22,29 ^e	1,14 ^d
DPC ⁶	0,86	0,79	0,91	0,61	0,05
p (Hartley)	0,07	0,20	0,59	0,96	0,04
p (ANOVA)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

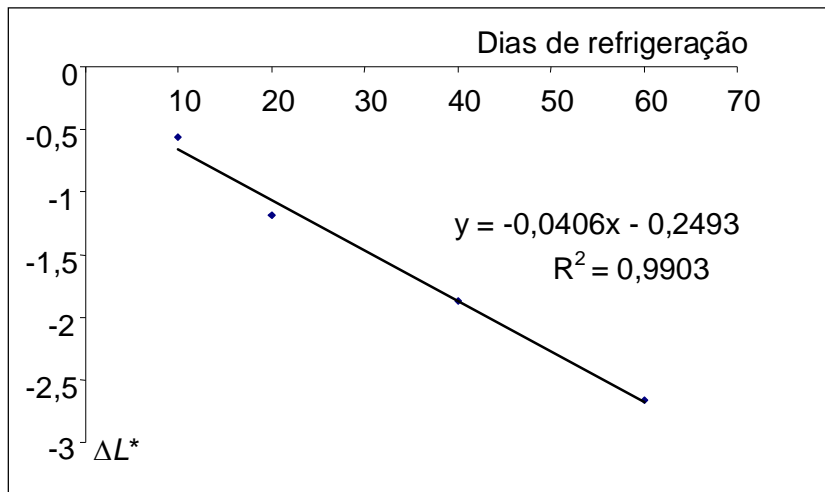
NOTA: ¹ L^* = luminosidade; ² a^* = coordenada de cromaticidade a^* ; ³ b^* = coordenada de cromaticidade b^* ; ⁴ C^* = intensidade de cor; ⁵ h^* = tonalidade de cor; ⁶DPC: Desvio padrão conjunto ($n = 6$). Letras diferentes na mesma coluna representam resultados significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os parâmetros CIELAB de cor têm se mostrado válidos na descrição visual da deterioração de cor e úteis no controle de qualidade de diversos tipos de alimentos como café, sobremesas à base de frutas, sucos e carnes (CORRÊA; JUNIOR, 2003;

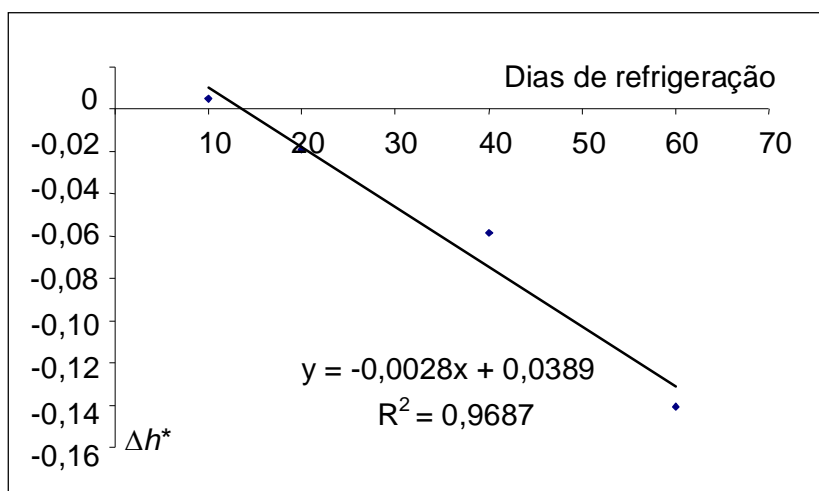
CRUZ; GRANATO; MASSON, 2008; TIWARI *et al.*, 2009; TSIRONI *et al.*, 2009). O estudo cinético da degradação da cor em alimentos é importante para a indústria, pois a cor é uma das características mais marcantes para os consumidores e tem relação direta com sua aceitabilidade inicial (LEE *et al.*, 2009; PALAZÓN *et al.*, 2009).

A partir dos dados da Tabela 4.5, modelos matemáticos e gráficos de perda da cor nas coordenadas a^* (cor vermelha), b^* (cor amarela), L^* (luminosidade), C^* (intensidade de cor) e h^* (tonalidade de cor) foram gerados para entender o processo de degradação de cor nas coordenadas de cromaticidade estudadas. Os gráficos da Figuras 4.4A, 4.4B e 4.4C mostram que os valores de Δa^* , ΔL^* e Δh^* apresentaram decréscimo linear nos 60 dias analisados, com valores do coeficiente de determinação na ordem de 99,42%, 99,03% e 96,87%, respectivamente, o que valida significativamente os dados experimentais. Tarrega e Costell (2007) verificaram que o armazenamento refrigerado de amostras de sobremesas com extrato de baunilha diminui os valores da luminosidade e da coordenada b^* . De uma maneira geral, a cor de um alimento estocado é diminuída em relação ao tempo devido às reações de oxidações de lipídeos, carotenóides e reações enzimáticas (TEIXEIRA NETO; MOURA, 2004; CALLIGARIS *et al.*, 2007; GLIEMMO *et al.*, 2009). Os carotenóides, pigmentos altamente insaturados, são muito afetados pela presença de oxigênio, luz e atividade de água, com conseqüente diminuição da cor (PADULA, 2004).





B



C

FIGURA 4.4: VALORES EXPERIMENTAIS DE PERDA DE COR DA COORDENADA a^* (A), L^* (B) E h^* (C) DA EMULSÃO EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

Em relação à coordenada b^* , entre os 60 dias de armazenamento resfriado, observou-se que houve aumento significativo ($p < 0,05$), e o modelo matemático, entretanto, não foi capaz de ajustar os dados experimentais. O aumento de b^* é, provavelmente, devido à degradação dos carotenóides naturais do suco de goiaba, deixando a amostra com maior característica da cor amarela. A alteração de cor da coordenada b^* está relacionada positivamente com a perda de luminosidade ($r = 0,677$, $p < 0,05$) e aumento da cromaticidade da emulsão ($r = 0,684$, $p < 0,05$). Na verdade, observou-se que com a diminuição linear da coordenada a^* , a cor amarela (coordenada b^*) aumentou ($r = 0,570$, $p \geq 0,05$), o que implicou no aumento da

intensidade de cor da amostra. Observou-se também que a diminuição da intensidade da cor vermelha (coordenada a^*) está diretamente correlacionada com a perda de luminosidade ($r = 0,980$, $p < 0,05$) e com a degradação de tonalidade de cor ($r = 0,901$, $p < 0,05$).

Os resultados experimentais da perda de intensidade de cor (ΔC^*) puderam ser plotados em um gráfico com tendência polinomial e com coeficiente de determinação na ordem de 74,50% (Figura 4.5), indicando bom ajuste dos dados.

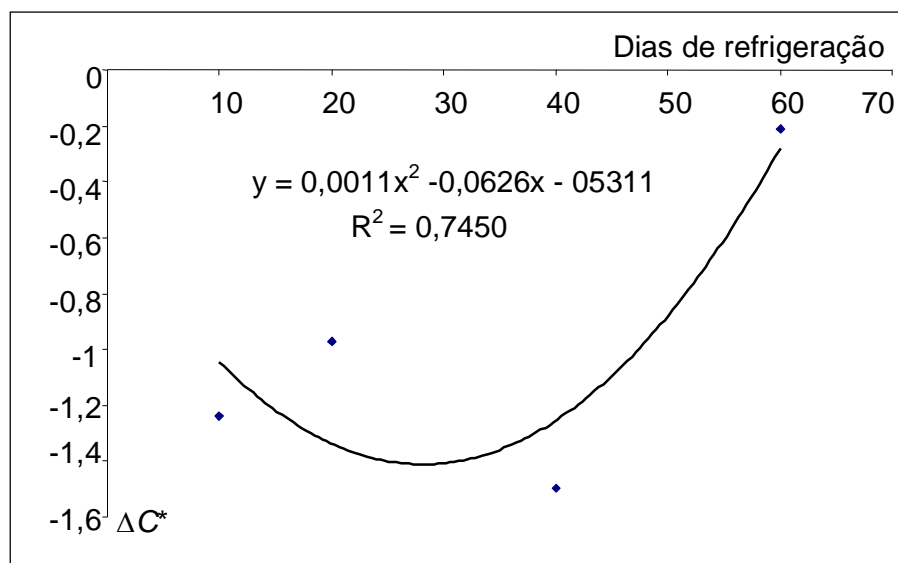


FIGURA 4.5- VALORES EXPERIMENTAIS DE PERDA DA INTENSIDADE DE COR DA SOBREMESA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

A perda total de cor (ΔE) leva em consideração a perda de luminosidade, cor vermelha e amarela, e através dos resultados obtidos observou-se que a degradação cromática aumentou significativamente ($p < 0,05$) em função do tempo de estocagem refrigerada, como se observa na Figura 4.6, que evidencia $\Delta E < 3$ nos primeiros 40 dias de estocagem e $\Delta E > 3$ após 43 dias de refrigeração. Imram (1999) propôs que diferenças perceptíveis de cor podem ser analiticamente classificadas como muito distinto ($\Delta E > 3$), distinto ($1,5 < \Delta E < 3$) e pouca diferença ($\Delta E < 1,5$). Seria desejável, portanto, a utilização de corantes para que a perda de cor seja reduzida e não mostrem aumento no seu valor absoluto durante o armazenamento e que, de preferência, essa perda não seja notada pelos consumidores potenciais.

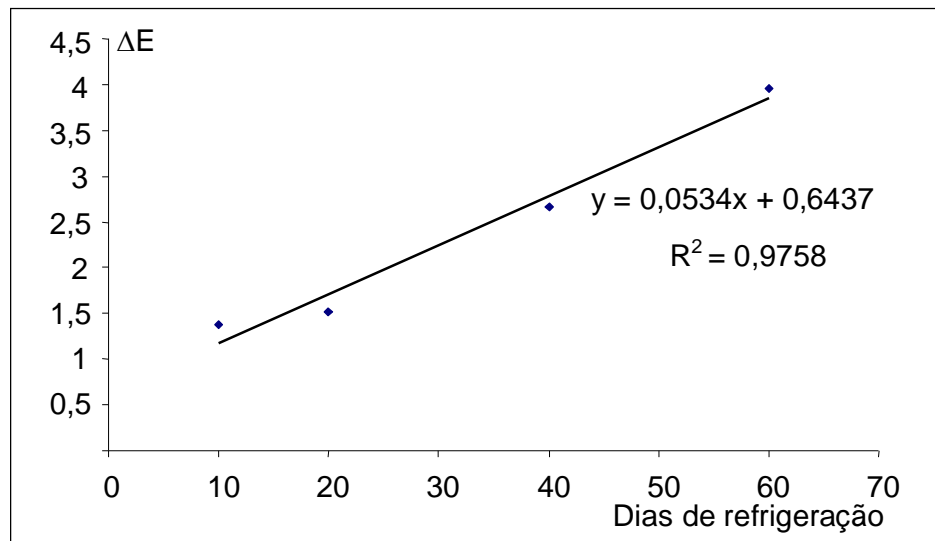


FIGURA 4.6- VALORES EXPERIMENTAIS DE PERDA DE COR TOTAL DA EMULSÃO EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$..

4.3.3.4. Alteração de cor e do teor de vitamina C

A Tabela 4.5 mostra os parâmetros da modelagem de cinética de primeira ordem e os resultados estatísticos para a degradação de cor e vitamina C da emulsão durante o armazenamento refrigerado a $7 \pm 1^\circ\text{C}$. Com relação ao coeficiente de determinação, pode-se dizer que os ajustes dos resultados experimentais são adequados para a estimativa de tais parâmetros, com exceção para a cromaticidade que apresentou $R^2 < 70\%$, mostrando comportamento de reação de degradação de segunda ordem.

TABELA 4.5- PARÂMETROS CINÉTICOS E ESTATÍSTICOS DA VARIAÇÃO DE COR E VITAMINA C DA EMULSÃO DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

PARÂMETROS	PARÂMETROS DA CINÉTICA DE PRIMEIRA ORDEM		PARÂMETROS ESTATÍSTICOS	
	k (dias ⁻¹)	t _{1/2} (dias)	R ² (%)	P ¹
Luminosidade	0,000542	1278,91	77,27	< 0,05
Coordenada a*	0,00274	252,89	97,52	< 0,05
Coordenada b*	-0,00171	-404,10	99,59	< 0,05
Cromaticidade	0,000119	5813,38	31,52	> 0,05
Ângulo h*	0,00195	354,73	96,10	< 0,05
Vitamina C ²	0,00578	119,83	94,03	< 0,05

NOTA: ¹p= nível de probabilidade do modelo; ²Expressa como mg/100 g.

A degradação relativa da coordenada a/a^*_0 (Figura 4.7) e h^*/h^*_0 (Figura 4.8) está ligada ao decréscimo em cor vermelha, L^*/L^*_0 indica a diminuição da claridade da amostra (Figura 4.9), C^*/C^*_0 está relacionada à diminuição da intensidade de cor da emulsão e b^*/b^*_0 , que apresentou valor negativo, indica aumento do valor absoluto de cor amarela em relação ao tempo de estocagem (Figura 4.10). A diminuição do teor de vitamina C (Figura 4.11) também pode ser explicada por uma reação de primeira ordem, com meia vida de quase 120 dias apresentando constante de 0,00578 por dia.

Correlação de Pearson foi determinada entre a coordenada a^* e teor de vitamina C e um valor significativo ($p < 0,05$) de associação entre essas variáveis foi encontrado ($r = 0,963$), indicando o papel protetor da vitamina C nos pigmentos vermelhos contidos na emulsão. Assim, parte da degradação da cor vermelha está relacionada à diminuição de vitamina C. Mesma tendência foi observada no estudo colorimétrico de desidratação osmótica de fatias de kiwi, onde Demczuk Junior *et al.* (2008) verificaram que a diminuição de vitamina C também foi modelada em uma reação de primeira ordem e acarretou a diminuição da cor verde.

Na indústria, a modelagem cinética de degradação de cor, nutrientes e outras características que são facilmente perdidas na produção, armazenamento e logística de distribuição é utilizada para prever a influência destes fatores na qualidade final do produto, sendo uma ferramenta muito útil para avaliação e predição de dados instrumentais (CULLEN *et al.*, 2008; TIWARI *et al.*, 2009).

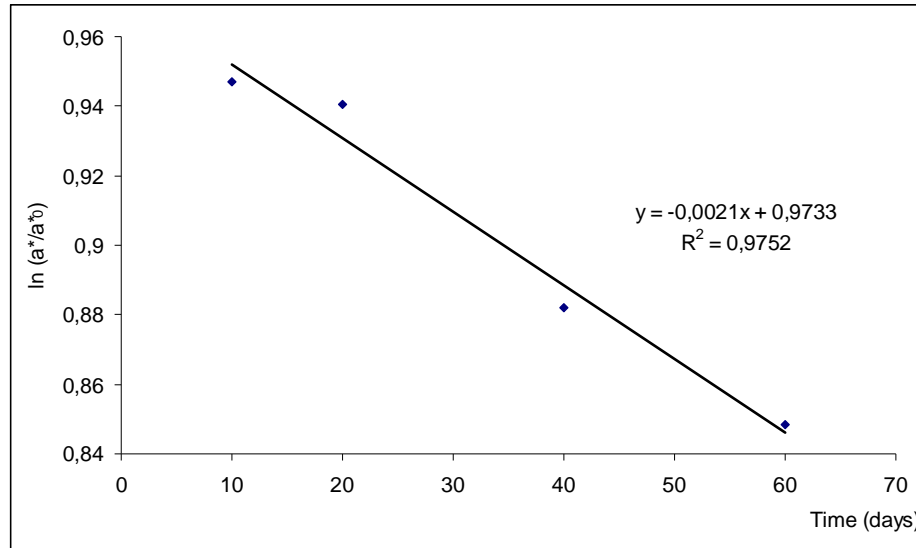


FIGURA 4.7- MODELO CINÉTICO DE PRIMEIRA ORDEM DA VARIAÇÃO DO PARÂMETRO DE COR a^* EM EMULSÃO DE SOJA E GOIABA DURANTE A ESTOCAGEM REFRIGERADA A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

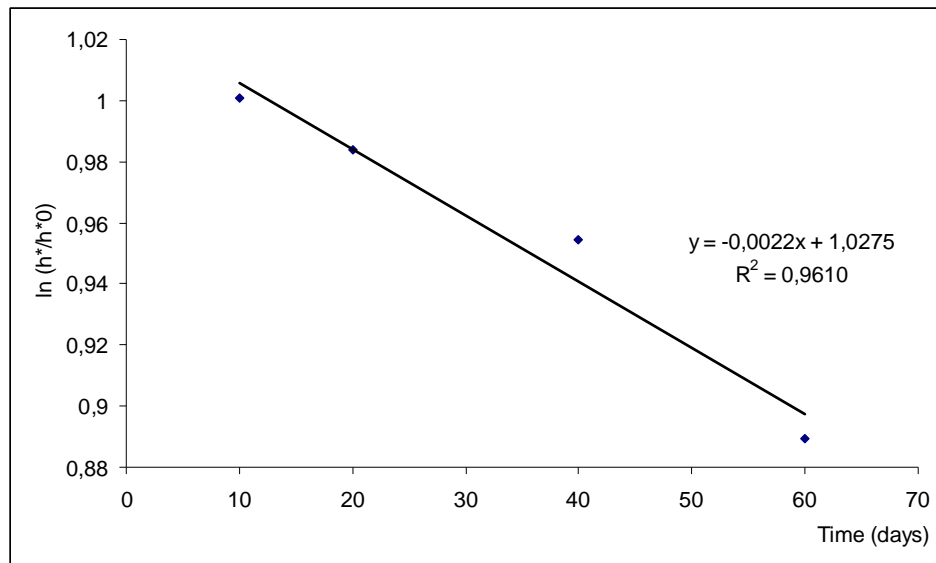


FIGURA 4.8- MODELO CINÉTICO DE PRIMEIRA ORDEM DA VARIAÇÃO DO PARÂMETRO DE COR h^* EM EMULSÃO DE SOJA E GOIABA DURANTE A ESTOCAGEM REFRIGERADA A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

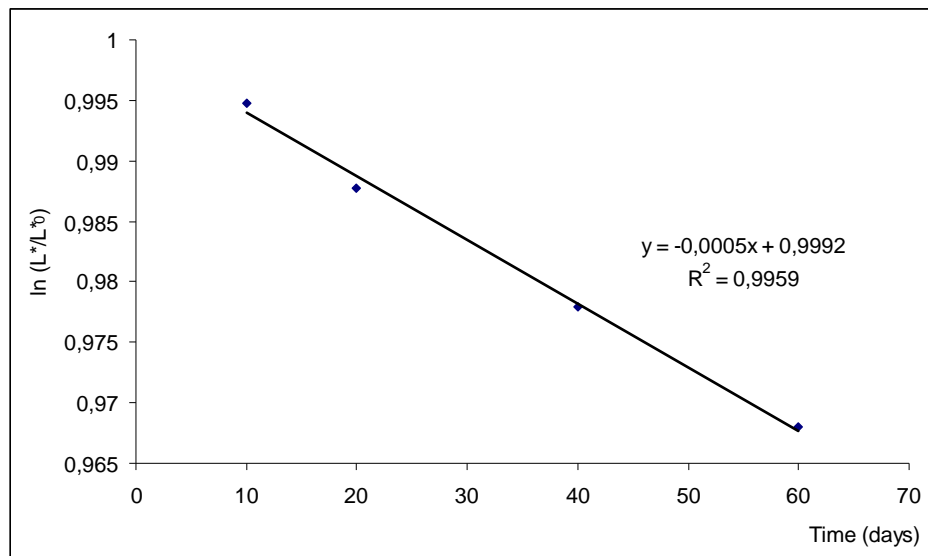


FIGURA 4.9- MODELO CINÉTICO DE PRIMEIRA ORDEM DA VARIAÇÃO DO PARÂMETRO DE COR L^* EM EMULSÃO DE SOJA E GOIABA DURANTE A ESTOCAGEM REFRIGERADA A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

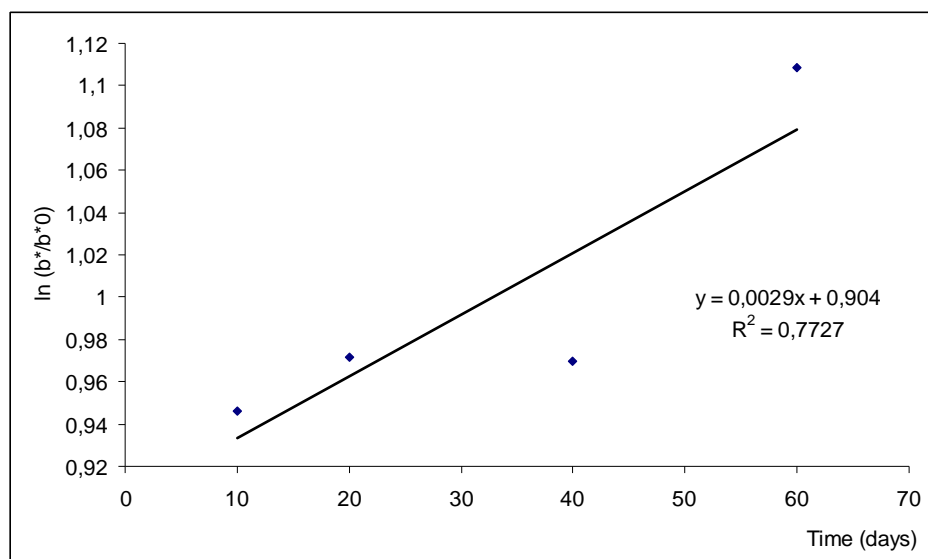


FIGURA 4.10: MODELO CINÉTICO DE PRIMEIRA ORDEM DA VARIAÇÃO DO PARÂMETRO DE COR b^* EM EMULSÃO DE SOJA E GOIABA DURANTE A ESTOCAGEM REFRIGERADA A $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

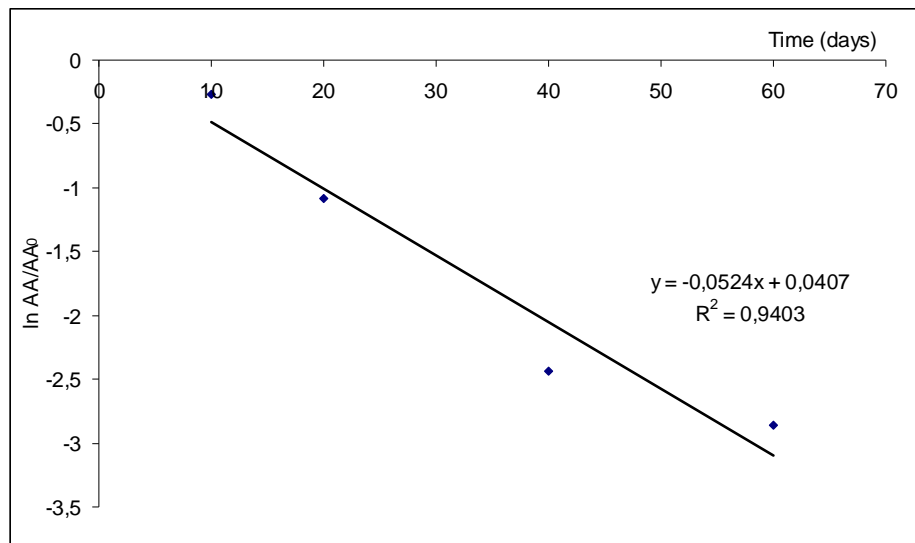


FIGURA 4.11- MODELO CINÉTICO DE PRIMEIRA ORDEM DA VARIAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA C (AA) EM EMULSÃO DE SOJA E GOIABA DURANTE A ESTOCAGEM REFRIGERADA A $7 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.3.3.5. Estabilidade microbiológica

Os resultados das análises microbiológicas mostraram que o produto manteve a mesma contagem de coliformes totais (< 3 NMP/g), termotolerantes (< 3 NMP/g), *S. aureus* ($< 10^2$ NMP/g), *B. cereus* ($< 10^2$ NMP/g), bolores e leveduras ($< 10^2$ UFC/g) e ausência de *Salmonella* no período de 60 dias, permanecendo dentro dos valores críticos preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001).

A qualidade microbiológica do produto indica que as condições higiênico-sanitárias de processamento foram satisfatórias e que o tratamento térmico realizado e a presença de benzoato de sódio foram eficientes para a conservação do produto durante o período estudado.

A temperatura, tanto durante as várias fases de processamento quanto durante o período de estocagem e pré-consumo, tem estabelecido a vida útil de diversos alimentos. A temperatura é um dos fatores ambientais que mais influem no crescimento e na atividade metabólica dos microrganismos. A temperatura mínima de crescimento da maioria dos microrganismos mesófilos é de 10°C , ou seja, não representam problema sério, pois, durante a refrigeração, empregam-se temperaturas inferiores a essa. Os microrganismos psicrótróficos, que têm a

capacidade de se multiplicarem a 5°C ou temperaturas inferiores, são os principais causadores de alterações em alimentos refrigerados, mas em matrizes cujos valores de pH são baixos, a multiplicação destes microorganismos é praticamente nula (ORDÓÑEZ, 2005). Temperaturas de refrigeração contribuem para reduzir a atividade microbiana, além de diminuir em termos logarítmicos a velocidade das reações químicas e enzimáticas no sistema, mantendo a qualidade intrínseca do produto e aumentando a segurança para o consumidor (BRECHT *et al.*, 2003; ORDÓÑEZ, 2005).

4.3.3.6. Atributos sensoriais

A Tabela 4.6 mostra que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os atributos de aparência, cor, sabor e aroma no período de 60 dias, havendo consenso entre os provadores de acordo com a análise de variância ($p_{\text{juizador}} \geq 0,05$) e as notas mostraram-se homogêneas pelo teste de Hartley ($p_{\text{amostras}} > 0,01$). Comparando-se os tempos $t = 1$ e $t = 60$ dias, o valor de cremosidade aumentou 12,10% e a aceitação diminuiu 8,69%, entretanto essas alterações não foram significativas estatisticamente ($p = 0,17$ e $p = 0,13$, respectivamente).

TABELA 4.6- ALTERAÇÃO SENSORIAL DA EMULSÃO EM 60 DIAS DE ESTOCAGEM REFRIGERADA.

DIAS	APARÊNCIA	COR	ACIDEZ	SABOR	CREMOSIDADE	AROMA	ACEITAÇÃO	IA ¹	IC ²
1	5,22 ^{a,b}	5,18 ^a	5,20 ^a	5,56 ^{a,b}	5,73 ^a	5,37 ^b	5,69 ^a	91,10	3,91 ^a
20	5,29 ^a	5,53 ^a	5,07 ^a	5,44 ^{a,b}	5,98 ^a	5,82 ^{a,b}	5,47 ^a	91,00	3,78 ^a
40	5,40 ^a	5,02 ^{a,b}	5,20 ^a	5,78 ^a	6,04 ^a	5,71 ^{a,b}	5,51 ^a	88,90	3,71 ^a
60	4,67 ^b	4,53 ^b	5,22 ^a	5,11 ^b	6,22 ^a	6,02 ^a	5,18 ^a	82,22	3,20 ^b
DPC ³	1,15	1,23	1,14	1,12	1,04	1,11	1,03	--	0,89
p_{amostra} (Hartley)	0,19	0,50	0,91	0,13	0,10	0,95	0,65	--	0,75
p_{amostra} (ANOVA)	0,01	0,01	0,92	0,04	0,17	0,04	0,13	--	< 0,001
p_{juizador} (Hartley)	0,99	1,00	0,88	0,99	0,91	0,63	0,99	--	1,00
p_{juizador} (ANOVA)	0,34	0,61	0,18	0,66	0,05	0,46	0,22	--	0,42

NOTA: ¹IA = Índice de aceitação (%); ²IC = Intenção de compra; ³DPC = desvio padrão conjunto ($n = 50$); -- = não aplicável. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para ser considerado aceitável, o produto alimentício deve apresentar escore sensorial acima ou igual a 5,00 (Gostei ligeiramente) quando se utiliza escala

hedônica de 7 pontos (DUTCOSKY, 2007). Portanto, de acordo com essa condição, a aparência e a cor não permaneceram aceitáveis no tempo de 60 dias. Verificou-se que a cor observada pelos provadores está diretamente correlacionada com a aparência ($r = 0,786$, $p < 0,05$), sabor ($r = 0,502$, $p \geq 0,05$) e aceitação ($r = 0,679$, $p < 0,05$), ao passo que a diminuição do escore de aparência está diretamente ligada à perda de aceitação ($r = 0,798$, $p < 0,05$) e sabor ($r = 0,925$, $p < 0,05$). A mesma tendência foi observada em sobremesas elaboradas com diferentes concentrações de raiz de orquídea ao longo de 21 dias de armazenamento refrigerado (AYAR; SERT; AKBULUT, 2009).

Em produtos alimentícios, a aparência e a cor são os dois primeiros aspectos que influenciam a opinião do consumidor quanto à sua decisão de compra e conseqüente consumo, além de influenciarem a percepção do sabor, aroma e aceitação, portanto são dois fatores de impacto na aceitação inicial de alimentos (MINIM *et al.*, 2008). Na indústria, é muito comum a utilização de ingredientes que melhorem a cor e aparência do produto final como corantes naturais, que realcem os atributos sensoriais do produto final e mascaram a perda de cor oriunda de reações químicas do produto, tornando o alimento aceito pelo consumidor (MEILGAARD; CARR; CIVILLE, 1999).

A cor observada pelos provadores foi correlacionada com a perda de cor instrumental medida no espectrofotômetro, mostrando que aquela está diretamente relacionada com a perda de intensidade de cor vermelha ($r = 0,809$, $p < 0,05$), com perda de tonalidade ($r = 0,876$, $p < 0,05$), com a perda de cromaticidade ($r = 0,561$, $p \geq 0,05$) e com a perda de cor total da sobremesa ($r = 0,919$, $p < 0,05$). A vantagem de utilizar metodologias analíticas na determinação de cor é sua precisão, tempo de operação muito menor e mais barato do que comparado com avaliações sensoriais utilizando consumidores potenciais. Assim, medidas instrumentais que se correlacionam fortemente com parâmetros sensoriais podem substituir tais avaliações e podem, certamente, serem utilizadas como instrumentos de programas de controle de qualidade nas indústrias (CALLIGARIS *et al.*, 2007).

O sabor da sobremesa mostrou estar acima do limite mínimo de aceitação (acima 5,00) no tempo de 60 dias de refrigeração. Através a determinação de correlação linear, verificou-se que o sabor está fortemente associado com a aparência ($r = 0,925$, $p < 0,05$) e com a aceitação ($r = 0,771$, $p < 0,05$), mostrando que a avaliação de parâmetros sensoriais por parte do provador é uma tarefa multi e

não unidimensional. De fato, o sabor é um atributo com muita importância para o consumidor e influencia hábitos alimentares e mercadológicos e, de acordo com os pesquisadores Luckow e Delahunty (2004), a aceitação de um alimento está baseada no sabor ao invés de suas propriedades funcionais e deve ser levado em consideração em produtos contendo derivados de soja devido à adstringência que ela geralmente confere aos produtos processados.

Com relação à cremosidade da amostra, houve aumento gradual em relação ao tempo de armazenamento, porém não significativo ($p = 0,10$). De acordo com Lawless e Heymann (1999) e Ayar, Sert e Akbulut (2009), a cremosidade de um produto é extremamente importante para o alimento, conferindo maior apelo sensorial e assim, pode ser usada como indicador de qualidade pelas indústrias. Cremosidade pode ser definida como uma percepção complexa produzida na cavidade oral, sendo um atributo que define a compra de vários produtos como molhos para salada, sorvetes, maioneses e sobremesas (RICHARDSON-HARMAN *et al.*, 2000).

A aceitação da emulsão não mudou significativamente ($p = 0,65$) com o passar do tempo de armazenamento, o que implica dizer que de maneira geral, que sua qualidade sensorial manteve-se constante. A determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos, sendo uma das análises mais importantes para caracterização e controle de qualidade (GRANATO; NEVES, 2009). Entretanto, a aceitação não é o único parâmetro que as indústrias levam em consideração quando um produto é desenvolvido ou reformulado; outros atributos como aroma, sabor, textura, cor, doçura e acidez também são avaliados para se obter um produto aceitável e com características sensoriais ótimas para ser comercializado com sucesso (MINIM, 2006).

Emulsão tipo gelado comestível de mirtilo selvagem desenvolvida com creme de soja e proteína texturizada de soja (PTS) apresentou escores acima de 6,00 para os parâmetros de cor, sabor e textura e índice de aceitação de 73,70% (THE; DOUGHERTY; CAMIRE, 2005). Emulsão tipo sobremesa elaborada com leite de coco, PTS e aromatizante de *cheesecake* apresentou 96,33% de aceitação e 82,57% de intenção de compra (SOLER, 2005), enquanto que sobremesa não fermentada à base de soja e com aromas de frutas apresentou intenção de compra de 94% dos provadores e durante o armazenamento refrigerado não apresentou

diferença estatística na aceitação (HEENAN *et al.*, 2004). Estas pesquisas evidenciam que os consumidores estão aceitando mais em sua dieta alimentos contendo derivados de soja, não apenas pelo fato de eles serem opções saudáveis, mas também pelo sabor, aroma e aparência agradáveis que possuem.

Verificou-se que a intenção de compra da amostra de sobremesa refrigerada permaneceu entre as categorias 'talvez comprasse' e 'provavelmente comprasse', o que é um resultado favorável, uma vez que não existe produto similar no comércio brasileiro. De acordo com a Equação da reta apresentada na Figura 4.12, a queda de intenção de compra na escala hedônica foi linear, com valor absoluto de 0,0112 por dia de armazenamento refrigerado, sendo que o coeficiente de determinação foi de 83,80%, mostrando forte interação entre as variáveis. Constatou-se que a intenção de compra está positivamente correlacionada com a aparência ($r = 0,881$, $p < 0,05$), cor ($r = 0,847$, $p < 0,05$) e aceitação ($r = 0,964$, $p < 0,05$), evidenciando que os atributos avaliados são bons indicadores de qualidade de emulsão de soja e suco de goiaba.

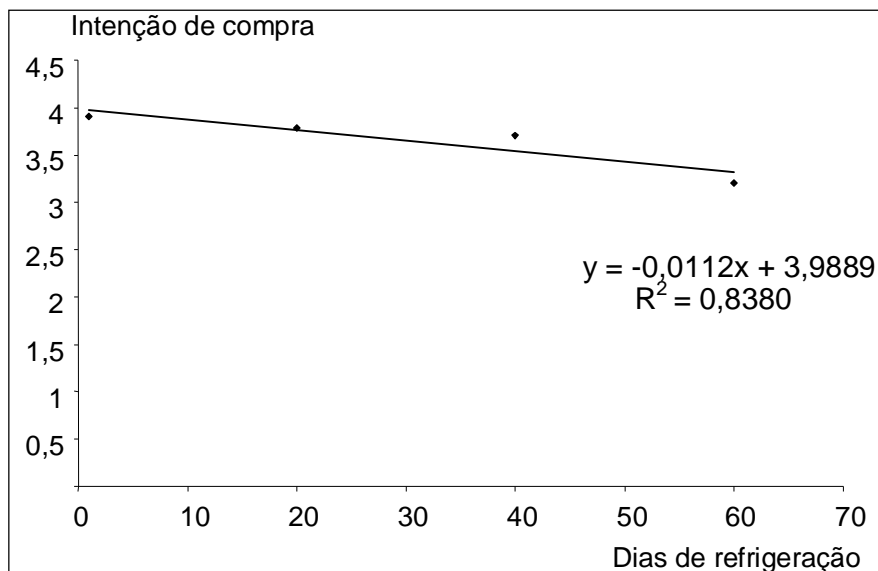


FIGURA 4.12- INTENÇÃO DE COMPRA DE EMULSÃO DE GOIABA NOS 60 DIAS DE REFRIGERAÇÃO a $7 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

A atitude é uma predisposição aprendida pelo indivíduo, formada a partir de suas experiências e informações obtidas, as quais o influenciam a agir favorável ou desfavoravelmente em relação a um determinado produto (SCHIFFMAN; KANUK,

2000). Behrens e Silva (2004) estudaram o comportamento e atitude de consumidores em relação à soja e produtos derivados e concluíram que as indústrias alimentícias que desejam lançar no mercado produtos à base de soja devem investir tanto nos aspectos sensoriais como na divulgação dos benefícios do consumo de tais produtos à saúde humana, a fim de levantar expectativas positivas nos consumidores e estimular a compra e o consumo destes produtos.

Pesquisas científicas têm mostrado que o consumidor vem aceitando cada vez mais produtos contendo soja em sua dieta convencional (CHEN; WEINGARTNER; BREWER, 2003; POTTER *et al.*, 2007). Sobremesa fermentada com extrato hidrossolúvel de soja, sem adição de açúcares, suplementado com oligofrutose e inulina obteve índice de aceitação acima de 70% (HAULY; FUCHS; PRUDENCIO-FERREIRA, 2005); bebida à base de EHS contendo *L. acidophilus* e polpa de pêssgo apresentou atributos sensoriais adequados bem como aceitação de 80% (BARBOSA, 2007). O impacto sensorial da adição de fibras com potencial prebiótico em alimentos como sorvete, iogurtes, biscoitos e bebidas precisam ser considerados no desenvolvimento de produtos. Tem sido também observado que alimentos adicionados de fibras prebióticas como oligofrutose e inulina possuem alto índice de aceitação, além de perfis mais adequados de textura, sabor e aparência quando comparados com as formulações controle - sem adição de fibras (DUTCOSKY *et al.*, 2006; CARDARELLI *et al.*, 2008).

4.3.3.7. Estimativa de vida de prateleira

A Tabela 4.7 mostra que os parâmetros de intenção de compra, índice de aceitação e aceitação global da amostra foram significativos ($p < 0,05$) e os coeficientes de determinação foram superiores a 80%, mostrando que podem ser utilizados para fins preditivos. Sendo assim, fixou-se um valor crítico de $y = 4,999$ para aceitação global, ao passo que o valor crítico para intenção de compra e índice de aceitação foram de 2,999 e 69,999, respectivamente. A diferença entre os valores críticos baseou-se na escala hedônica utilizada na análise sensorial e no caso do índice de aceitação, o valor de 69,999 já é considerado inaceitável.

TABELA 4.7- ESTIMATIVA DE VIDA DE PRATELEIRA PARA OS ATRIBUTOS SENSORIAIS SELECIONADOS DA EMULSÃO DE SOJA E GOIABA

ATRIBUTOS	EQUAÇÃO DA RETA	R ² (%)	EVP ²
Intenção de compra	$y = 3,989 - 0,011t$	83,98	79,5
Aceitação global	$y = 5,691 - 0,0075t$	82,42	91,5
Índice de aceitação	$y = 90,864 + 0,1094t - 0,0042t^2$	99,42	84,7

NOTA: ¹EVP= Estimativa de vida de prateleira, em dias.

Tanto a intenção de compra como a aceitação permaneceria dentro da faixa de aceitabilidade ($\geq 5,00$ – gostei ligeiramente) por mais de 79 dias, o que é um tempo relativamente alto se for considerado o transporte, distribuição e estocagem no mercado até a compra pelo consumidor final. A estabilidade é uma característica extremamente desejável em alimentos. Ao adquirir um alimento, o consumidor deseja que a sua qualidade seja mantida pelo maior tempo possível, tanto do ponto de vista microbiológico, quanto sensorial (MENEZES *et al.*, 2008). Tais atributos representam muito os dados globais do teste afetivo como o sabor, aroma e aparência, sendo considerados atributos críticos na decisão final de formulações nas indústrias de alimentos (HEENAN *et al.*, 2004). Para a indústria de alimentos, o mais importante não é a determinação de um valor absoluto de vida de prateleira, mas assegurar que esse período seja mais longo que o período normal de distribuição e consumo do produto (NETTO, 2004).

De acordo com as políticas internas da indústria, ela pode escolher o limite crítico de aceitação e o índice de rejeição para que o seu produto permaneça e/ou seja lançado no mercado e, assim sendo, estudos minuciosos que envolvam a parte de estabilidade microbiológica, físico-química e sensorial devem ser conduzidos para que não haja perdas e falhas na cadeia de produção e distribuição (MANZOCCO; LAGAZIO, 2009).

4.4 CONCLUSÕES

- A amostra elaborada com 2% de proteína de soja e 32% de suco de goiaba vermelha mostrou ser fonte de cobre, ferro, vitamina C e fibras alimentares, além de possuir escores sensoriais de cremosidade, aroma, sabor acida de 'gostei ligeiramente';
- Após 60 dias de armazenamento refrigerado verificou-se que a amostra contendo 32% de suco de goiaba e 2% de proteína de soja sofreu alterações significativas ($p < 0,05$) nos parâmetros físico-químicos e cromáticos avaliados, sendo os dados modelados matematicamente e obtiveram-se altos coeficientes de determinação; preservou suas características microbiológicas abaixo dos níveis críticos recomendados pela legislação brasileira vigente; manteve os escores de aceitação global, intenção de compra, cremosidade, sabor, acidez e aroma acima do limite mínimo de aceitação (5,00 - gostei ligeiramente); permaneceu como fonte de vitamina C;
- Através da análise de regressão, conclui-se que a vida de prateleira estimada do produto composto por 32% de suco de goiaba e 2,00% de proteína de soja foi de 79 dias.

CONCLUSÕES FINAIS

A partir dos experimentos e análises realizadas, pode ser concluído que:

- As emulsões apresentaram teor de carotenóides acima de 1150 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, agregando valor nutritivo aos produtos;
- Quanto maior a concentração de suco de goiaba empregado, maiores os valores dos parâmetros de coordenada a^* , tonalidade de cor, acidez titulável, sabor, e cor das emulsões;
- Quanto maior a concentração de proteína de soja empregada, menores os valores de atividade de água e maiores valores de ferro e cremosidade das amostras;
- Através de métodos estatísticos, a amostra contendo 1,17% de proteína de soja e 32% de suco de goiaba foi indicada como a otimizada, sendo classificada como fonte de vitamina C, fibras alimentares, ferro e magnésio, além de obter escores sensoriais acima de 'gostei ligeiramente' para os atributos de acidez, sabor, aceitação, cremosidade e aroma;
- As amostras de emulsão, com exceção a produzida com 22% de suco de goiaba e 2% de proteína de soja, apresentaram índices de aceitação acima de 70%, limite mínimo para serem consideradas potenciais de mercado;
- A emulsão elaborada com 32% de suco de goiaba e 2% de proteína de soja foi a amostra preferida pela obtenção simultânea de altos escores de sabor, aceitação, cremosidade e intenção de compra. Além disso, a amostra pode ser classificada como fonte de fibras alimentares, vitamina C, cobre, ferro;
- Após 60 dias de refrigeração controlada a $7 \pm 1^\circ\text{C}$, a amostra preservou suas características microbiológicas abaixo dos níveis críticos recomendados pela legislação brasileira vigente; manteve os escores de aceitação global, intenção de compra, cremosidade, sabor, acidez e aroma acima do limite mínimo de aceitação (5,00 - gostei ligeiramente) e ainda permaneceu como fonte de vitamina C, com uma vida de prateleira estimada em 79 dias.

SUGESTÕES

Variar a quantidade de suco de goiaba e proteína de soja em diferentes níveis e em planejamentos experimentais diferenciados;

Utilizar a oligofrutose como variável independente, em diferentes concentrações, no intuito de avaliar as mudanças nos atributos físico-químicos, sensoriais e de estabilidade dos produtos;

Realizar a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) para as emulsões elaboradas, descrevendo o seu perfil sensorial;

Avaliar o emprego de outras fontes de proteínas vegetais para o desenvolvimento de emulsões destituídas de lactose;

Aplicar outras gomas alimentícias para verificar o comportamento de estabilidade física das amostras;

Estudar o comportamento reológico das emulsões e correlacionar com os atributos sensoriais;

Estudar a estabilidade dos componentes da emulsão (carotenóides, umidade, ácidos graxos livres, etc) durante o estoque refrigerado sob diversas temperaturas;

Utilizar diferentes temperaturas de armazenamento refrigerado e avaliar os parâmetros aqui estudados para estabelecer, mais precisamente, a vida de prateleira do produto.

Referências

ABIA. Associação Brasileira de Indústrias de Alimentos. **Alimentos funcionais: tendências de mercado**. Disponível em: <http://www.abia.org.br/noticias.asp>. Acessado em 12 setembro de 2008.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12995**: Teste triangular para avaliação sensorial de alimentos. Rio de Janeiro, 1993, 38 p.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12806**: Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1999, 38 p.

ABRAMS, S. A. *et al.* Calcium fortification of breakfast cereal enhances calcium absorption in children without affecting iron absorption. **Journal of Pediatrics**, v. 139, p. 522–526, 2001.

ABRAMS, S. A. *et al.* A multivitamin-fortified beverage enhances the nutritional status of children in Botswana. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1834–1840, 2003.

ALM, L. Lactose intolerance. In: ROGINSKY, H.; FUQUAY, J. W.; FOX, P. F., **Encyclopedia of dairy sciences**. London, UK: Academic Press, 2002, p. 1533–1537.

ALLIET, P. *et al.* Effect of prebiotic galacto-oligosaccharide, long-chain fructo-oligosaccharide infant formula on serum cholesterol and triacylglycerol levels. **Nutrition**, v. 23, n. 10, p. 719-723, 2007.

ANDERSON, J. J. B. Minerals. In: MAHAN, L. K.; STUMP, S. E. **Krause's food, nutrition and diet therapy**, 11. ed., Elsevier, 2004, p. 321.

ANDREASEN, T.G.; NIELSEN, H. Ice cream and aerated desserts. In: Early, R. (ed). **The technology of dairy products**. 2. ed. Blackie Academic & Professional: London, 1998, p. 321-326.

ANGELOV, A. *et al.* Development of a new oat-based probiotic drink. **International Journal of Food Microbiology**, v. 112, n. 1, p. 75-80, 2006.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis of the association of official agriculture chemists**. 17. ed. Washington: AOAC, 2005, 1094 p.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. APHA, Washington. 2001. 676 p.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004.

ARCOS-GARCIA, G. *et al.* Physicochemical, sensory, functional and microbial characterization of horse meat. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 1, p. 43-46, 2002.

ASH, D. M. *et al.* Randomized efficacy trial of a micronutrient-fortified beverage in primary school children in Tanzania. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p. 891–898, 2003.

ASP, E. Factors affecting food decisions made by individual consumers. **Food Policy**, v. 24, p. 287–294, 1999.

AZORÍN-ORTUÑO, M. *et al.* Effect of low inulin doses with different polymerisation degree on lipid metabolism, mineral absorption, and intestinal microbiota in rats with fat-supplemented diet. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1058-1065, 2009.

AYAR, A.; SERT, D.; AKBULUT, M. Effect of salep as a hydrocolloid on storage stability of Incir Uyutmasi dessert. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 62-71, 2009.

BALBACH, A.; BOARIM, D. S. F. **As frutas na medicina natural**, p.14-15, 1992.

BARBOSA, E. G. **Prevalência de bactéria probiótica *Lactobacillus acidophilus* NCFM em extrato de soja fermentado e saborizado com sacarose e polpa de**

pêssego. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2007, 480 p.

BAS, D.; BOYACI, İ. H. Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 846-854, 2007.

BECH-LARSEN, T.; GRUNERT, K. G. The perceived healthiness of functional foods-A conjoint study of Danish, Finnish and American consumer's perception of functional foods. **Appetite**, v. 40, p. 9-14, 2003.

BECHER, P. **Emulsions**: Theory and practice. Oxford: Oxford University Press, 2001.

BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos de funcionalidade, de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e cultura lácteas probióticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, n. 2, p. 99-106, 2001.

BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; SILVA, M. A. A. P. Fermentation of soymilk by commercial lactic cultures: development of a product with market potential. **Acta Alimentaria**, v. 33, n. 2, 101-109, 2004.

BENDICH, A.; OLSON, J. A. Biological actions of carotenoids. **FASEB Journal**, v. 3, n. 1, p. 1927-1932, 1989.

BEVERAGE MARKETING CORPORATION OF NEW YORK, **The future of soy beverages in the US**, Beverage Marketing Corporation of New York, New York, 2005.

BIZRI, J. N.; WAHEM, I. A. Citric acid and antimicrobials affect microbiological stability and quality of tomato juice. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 1, p. 130–135, 1994.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**. São Paulo: Varela, 3. ed., 2001, 143 p.

BOSSCHER, D. *et al.* Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutrition**, v. 19, n. 7-8, p. 641-645, 2003.

BOSSCHER, D.; VAN LOO, J.; FRANCK, A. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 9, p. 1092-1097, 2007.

BOX, G. E. P.; DRAPER, N. **Empirical model-building and response surface**. New York: John Wiley, 1987.

BRAMLEY, P. M. Is lycopene beneficial to human health? **Phytochemistry**, v. 54, n. 3, p. 233-236, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998: Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, janeiro de 1998, 4 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, janeiro de 1998, 7 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Resolução nº 40 de 21 de março de 2001. Regulamento Técnico para rotulagem

nutricional de alimentos e bebidas embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, março de 2001, 4 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005: regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 p.

BRECHT, J. K. *et al.* Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, n. 1, p. 87-101, 2003.

BURITI, F. C. A.; KOMATSU, T. R.; SAAD, S. M. I. Activity of passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*) pulps on *Lactobacillus acidophilus* in refrigerated mousses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 315-317, 2007.

BUSH, R. S.; MILLIGAN, L. P. Study of mechanism of inhibition of ketogenesis by propionate in bovine liver. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 51, p. 121-127, 1971.

CAAR, B. T. *et al.* Comparison of five common acceptance and preference methods. **Food Quality and Preference**, v. 19, p. 651-661, 2008.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: e-papers, 2003, 259 p.

CALLIGARIS, S. *et al.* Shelf-life modelling of bakery products by using oxidation indices. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, n. 5, 2004–2009, 2007.

CARABIN, I. G.; FLAMM, W. G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulament Toxicology and Pharmacology**, v. 30, p. 268-282, 1999.

CARDARELLI, H. R. *et al.* Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic *petit-suisse* cheese. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1037-1046, 2008.

CARDELLO, A. V. *et al.* Predictors of food acceptance, consumption and satisfaction in specific eating situations. **Food Quality and Preference**, v. 11, n. 3, p. 201-216, 2000.

CARVALHO, J. M. **Bebidas à base de água de coco e suco de caju: processamento e estabilidade.** Fortaleza, 2005. 107 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará.

CASHMAN, K. D. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 169-177, 2002.

CASTIGLIONE, F. *et al.* Lactose malabsorption: Clinical or breath test diagnosis?. **European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 3, p. 316-320, 2008.

CASTRO I. A. *et al.* Simultaneous optimization of response variables in protein mixture formulation: constrained simplex method approach. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, p. 103–110, 2003.

CHAVES, M. A.; MATTÉ, G. M.; MENDONÇA, S. N. T. G. **Avaliação microbiológica e sensorial de sobremesa cremosa à base de extrato aquoso de soja adicionado de *Lactobacillus acidophillus*.** In: IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Curitiba, Anais do IX ERSCTA, p. 293-297, 2007.

CHEN, D. J.; WEINGARTNER, K.; BREWER, M. S. Consumer evaluation of soy ingredient-containing cookies. **Journal Food Quality**, v. 26, p. 219–229, 2003.

COFRADES, I. *et al.* Influence of different types and proportions of added edible seaweeds on characteristics of low-salt gel/emulsion meat systems. **Meat Science**, v. 79, n. 4, p. 767-776, 2008.

CORRÊA, P. C. JUNIOR, P. C. A. Influência do tempo de armazenagem na cor dos grãos de café pré-processados por via seca e via úmida. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1268-1276, 2003.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, v. 10, n. 2, p. 87-98, 1997.

COZZOLINO, S. M. F. Fatores que interferem na biodisponibilidade de vitamina A e carotenóides. In: **Biodisponibilidade de nutrientes**. São Paulo: Manole, 2007, p. 229-36.

COZZOLINO, S. M. F. Deficiências de minerais. **Estudos Avançados**, v. 21, n. 60, p. 50-55, 2007b.

CRUZ, A. G.; GRANATO, D.; MASSON, M. L. **Avaliação cromática e físico-química de alimentos contendo polpa de goiaba vermelha**. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte. Anais do XXI CBCTA, 2008, 3 p.

CULLEN, P. J. *et al.* Kinetics of Freshly Squeezed Orange Juice Quality Changes during Ozone Processing. **Journal of Food Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 6416-6422, 2008.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 145-151, 2002.

CUNHA, G. M. A. *et al.* **Estudo da cinética de inativação térmica da peroxidase presente na polpa de goiaba**. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, p. 1-6, 2005.

DAMIÃO, A. O. M. C. Prebióticos, probióticos e simbióticos- aplicações clínicas. **Nestlé- Bio Nutrição e Saúde**, v. 1, n. 1, p. 18-24, 2006.

DARLING D. F.; BIRKETT, R. J. Food colloids in practice. In: **Food Emulsions and Foams**. E. Dickinson, ed. R. Soc. Chem., London, United Kingdom, 1986.

DE ANGELIS, R. C. **Fome Oculta**: Bases fisiológicas para reduzir seu risco. São Paulo: Atheneu, 1999.

DE ANGELIS, R. C. Alimentos de origem vegetal são saudáveis: verdades e alguns questionamentos. **Nutrição em Pauta**, n. 57, p. 30-34, 2002.

DELZENNE, N. M. *et al.* Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 1, p. 255-259, 2002.

DEMAEYER, E.; ADIELS-TEGMAN, M. The prevalence of anaemia in the world. **World Health Stat**, v. 38, p. 302–316, 1985.

DEMCZUK JUNIOR, B. *et al.* Degradação da cor e do ácido ascórbico na desidratação osmótica de kiwi. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 2, p. 1-7, 2008.

DENHOND, E. M.; GEYPENS, B. J.; GHOOS, Y. F. Effect of long chain chicory inulin on bowel habit and transit time in constipated persons. **Nutrition Research**, v. 20, p. 731– 736, 2000.

DESHPANDE, R. P.; CHINNAN, M. S.; MCWATTERS, K. H. Optimization of a chocolate-flavored, peanut–soy beverage using response surface methodology (RSM) as applied to consumer acceptability data. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1485-1492, 2008.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, 2003, p. 25–39.

DRAKOS, A.; KIOSSEOGLOU, V. Depletion flocculation effects in egg-based model salad dressing emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 2, p. 218-224, 2008.

DUANGMAL, K.; SAICHEUA, B.; SUEEPRASAN, S. Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1437-1445, 2008.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2007, 210 p.

DUTCOSKY, S. D. *et al.* Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. **Food Chemistry**, v. 98, n. 4, p. 630-638, 2006.

DYBOWSKA, B. E. Properties of milk protein concentrate stabilized oil-in-water emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 507-513, 2008.

DYMINSKY, D. S. *et al.* Physico-chemical characteristic of sweet emulsion developed with passion fruit juice and fat replacers. **Boletim do CEPPA**, v. 18, n. 2, p. 267-274, 2000.

ELLIS, M. J. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic & Professional, 1996, p. 321.

EMBRAPA. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias para a Soja**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/>. Acesso em: 28 abr. 2007.

ENGELLEN, L. *et al.* The relation between saliva flow rate after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard emulsions. **Physiology and Behavior**, v. 78, p. 165-169, 2003.

ESAKI, H.; ONOZAKI, H.; OSAWA, T. Antioxidative activity of fermented soybean products. In: M.T. Huang, Editor, Food Phytochemicals for Cancer Prevention I, Fruits and Vegetables. **American Chemical Society**, p. 353–360, 1994.

IOM. Institute of Medicine. **Dietary Reference Intakes for minerals and vitamins**. Washington DC: National Academy Press, 2001. Disponível em: <http://www.nap.edu>. Acesso em 26 setembro 2007.

FAIRBANKS, V. F. Iron in medicine and nutrition. In: SHILS, M. E.; OLSON J. A.; SHIKE, M., **Modern nutrition in health and disease**, v. 1, 8 ed., p. 185–213, 1994.

FAN, G. *et al.* Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM). **Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 155-160, 2008.

FAVARO, D. I. T. *et al.* Determination of various nutrients and toxic elements in different Brazilian regional diets by neutron activation analysis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 11, p. 129-136, 1997.

FDA. Food and Drug Administration. **Functional Foods: report of 2004**. Disponível em: http://www.webdietitians.org/Public/GovernmentAffairs/92_adap1099.cfm. Acesso em 20 março 2007.

FERREIRA, C. L. L.; TESHIMA, E. Prebióticos, estratégia dietética para a manutenção da microbiota colônica desejável. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano III –n. 16, p. 22-25, 2000.

FERREIRA, P. R. Goiaba deve atrair mais consumidores. **Gazeta Mercantil**, p. B-20, 2000b.

FERREIRA, S. M. R. **Controle de qualidade em sistemas de alimentação coletiva**. Editora Varela, São Paulo: 2002, p. 173.

FERREIRA, R. Q.; AVACA, L. A. **Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante de sucos de frutas industrializados usando o “CRAC assay”**. In: 30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, p.1-2, 2007.

FINNEGAN, D. The health effects of stimulant drinks. **Nutrition Bulletin**, n. 28, p. 147-155, 2003.

FISH, W. W.; VEAZIE, P. P.; COLLINS, J. K. A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 15, n. 3, p. 309-317, 2002.

FAO. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. **Amino-acid content of foods and biological data on proteins**. Rome, 1970. (FAO Nutritional Studies, 24).

FAO. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. FAO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 34p., 2001. Disponível em: <http://www.ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2005.

FOOKS, L. J. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 53–61, 1999.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 1996, p. 307.

FREELAND, J. H.; GRAVES, H.; TROTTER, P. J. Minerals—dietary importance. In: Trugo, L.C.; Finglas, P. M. Editors, **Encyclopedia of food sciences and nutrition** (2 ed.), Academic press, San Diego, 2003, p. 4005–4012.

GABRIEL, A. A. Estimation of water activity from pH and °Brix values of some food products. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1106-1113, 2008.

GALLAGHER, E. *et al.* Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production. **Journal of Food Engineering**, v. 56, n. 2-3, p. 261-263, 2003.

GARCÍA-CASAL, M. N. Carotenoids increase iron absorption from cereal-based food in the human. **Nutrition Research**, v. 26, n. 7, p. 340-344, 2006.

GARTI, N.; LESER, M. E. Emulsification properties of hydrocolloids. *Polymers for advanced Technologies*, v. 12, p. 123-135, 2001.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavones in soy based foods consumed in Brazil: levels, distribution, and estimated intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5987-5993, 2002.

GIBSON, G. R. *et al.* Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Review**, v. 17, p. 259–275, 2004.

GLIEMMO, M. F.; LATORRE, M. E.; GERSCHENSON, L. N.; CAMPOS, C. A. Color stability of pumpkin (*Cucurbita moschata*, Duchesne ex Poiret) puree during storage at room temperature: Effect of pH, potassium sorbate, ascorbic acid and packaging material. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 196-201, 2009.

GRAÇA DIAS, M.; FILOMENA, M.; OLIVEIRA, L. Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 113, n. 3, p. 808-815, 2009.

GRANATO, D.; NEVES, L. S. Peanut's and almond's flours supplemented with iron as potential ingredients to develop cookies suppressed of gluten. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Trabalho aceito para publicação, 2009.

GROFF; J. L.; GROPPER, S. S. **Advanced nutrition and human metabolism**. 3 ed., Wadsworth Thompson Learning, Belmont, p. 371, 2000.

GROOP, P. H. *et al.* Long-term effects of guar gum in subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, p. 513-518, 1993.

GUERRERO, L. *et al.* Consumer attitude towards store brands. **Food Quality and Preference**, v. 11, n. 5, p. 387-395, 2000.

GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 128, p. 227–248, 2006.

HADLEY, C. W. *et al.* Tomatoes, lycopene, and prostate cancer: progress and promise. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, n. 10, p. 869-880, 2002.

HALLBERG, L.; ASP, N. G. **Iron nutrition in health and disease**. The Swedish Nutrition Foundation 20th International Symposium, John Libbey and Company Ltda, 1996, 364p.

HARAMI, J. B.; SAAD, S. M. I.; CASTRO, I. A. **Avaliação sensorial de uma nova sobremesa láctea congelada simbiótica**. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte. Anais do XXI CBCTA, 2008.

HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Soymilk yogurt supplemented with fructooligosaccharides: probiotic properties and acceptance. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 18, n. 5, p. 613-622, 2005.

HEBER, D.; LU, Q. Y. Overview of mechanisms of action of lycopene. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, n. 10, p. 920-923, 2002.

HEENAN, C. N. *et al.* Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 361-366, 2004.

HENRIQUES, G. S.; COZZOLINO, S. M. F. Ferro. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri: Manole, 2007, p. 508-532.

HEYMAN, M. B. Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. **Pediatrics**, 118, 1279–1286, 2006.

HOPKINS, R. M. *et al.* The prevalence of hookworm infection, iron deficiency and anemia in an aboriginal community in north-west Australia. **Medical Journal of Australia**, v. 166, p. 241-244, 1997.

HOST, A.; HALKEN, S. A prospective study of cow milk allergy in Danish infants during the first 3 years of life. **Allergy**, v. 45, p. 587-596, 1990.

HUNT, J. How important is dietary bioavailability?. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 3-4, 2001.

HUTCHINGS, J. B. **Food color and appearance**. 2 ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999, 610 p.

IBGE. Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística. **Dados e estatísticas sobre produção de alimentos**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 25 janeiro 2009.

IMRAM, N. The role of visual cues in consumer perception and acceptance of a food product. **Nutrition & Food Science**, v. 99, n. 5, p. 224-230, 1999.

INACG. International Nutritional Anemia Consultative Group. **Guidelines for the eradication of iron deficiency anemia**. A report of the International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG), Nutrition Foundation, Washington, DC, 1977.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

IZIDORO, D. R. *et al.* Influence of green banana pulp on the rheological behaviour and chemical characteristics of emulsions (mayonnaises). **Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1018-1028, 2008.

IZQUIERDO, P. *et al.* Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. **Langmuir**, v. 18, p. 26–30, 2002.

IZZO, M.; NINESS, K. Formulating nutrition bars with inulin and oligofructose. **Cereal Foods World**, v. 46, n. 3, p. 102–106, 2001.

IWE, M. O. *et al.* Amino acid and protein dispersibility index (PDI) of mixtures of extruded soy and sweet potato flours. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 71-75, 2001.

JEW, S.; JONES, P. J. Functional food development: concept to reality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 387-390, 2007.

JIRAPEANGTONG, K.; SIRIWATANAYOTHIN, S.; CHIEWCHAN, N. Effects of coconut sugar and stabilizing agents on stability and apparent viscosity of high-fat coconut milk. **Journal of Food Engineering**, v. 87, n. 3, p. 422-427, 2008.

JOUSSE, F. Modeling to improve the efficiency of product and process development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 7, p. 175-181, 2008.

JUSTFOOD. **Global market review of functional foods - forecasts to 2012**. 2006, 84p.

KASSAI, L. Mercado de bebidas à base de soja pode crescer 15% neste ano. **Gazeta mercantil**, São Paulo, 1º outubro, 2003.

KAUR, N.; GUPTA, A.K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **Journal of Bioscience**, v. 27, p. 703-714, 2002.

KHACHIK, F. *et al.* Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, n. 10, p. 845-851, 2002.

KOTILAINEN, L. *et al.* Health enhancing foods: Opportunities for strength the sector in developing countries. **Agriculture and Rural Development Discussion Paper**, v. 30, 2006, p. 6.

KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia: um livro texto do cuidado nutricional**. 9. ed. São Paulo: Roca, 2002, p. 200.

LAJOLO, F. M. **Fibra dietetica en iberoamerica: tecnologia y salud**. São Paulo: Varela, 2001, p. 345-370.

LANE, T. **Functional Food & Drink Consumption Trends**. Research and Market, Guinness centre, Ireland, 2007, p. 80.

LATHAM, M. C. *et al.* Micronutrient dietary supplements—a new fourth approach. **Archivos Latino Americano de Nutricion**, v. 51, n. 1, p. 37–41, 2001.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food**: principles and practices. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999, p. 827.

LEE, H. S.; COATES, G. A. Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled orange juice: a storage study. **Food Chemistry**, v. 65, p.165-168, 1999.

LEE, J. W. *et al.* Effect of gamma irradiation on microbial analysis, antioxidant activity, sugar content and color of ready-to-use tamarind juice during storage. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 101-105, 2009.

LEMOS, G. C. S. *et al.* Goiaba: amadurecimento, colheita, classificação, embalagem, transporte e armazenamento. **Cadernos de Horticultura da UFRS**, v. 3, n. 4, p.1-8, 1995.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1986, p. 725.

LESOURD, B. M. Nutrition and immunity in elderly: Modifications of immune responses with nutritional treatments. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.66, p. 478, 1997.

LEWIS, M.; DALE, R. H. Chilled yogurt and other dairy desserts. In: MAN, C.M.D., JONES, A.A. **Shelf life evaluation of foods**. New York: Blackie Academic & Professional, 1996, p. 321.

LIDEBJER, C.; LEANDERSON, J.; JONASSON, L. Low plasma levels of oxygenated carotenoids in patients with coronary artery disease. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 17, n. 6, p. 448-456, 2007.

LIMA, V. L. A. G.; MALLO, E. A.; LIMA, L. S. Avaliação da qualidade de suco de laranja industrializado. **Boletim CEPPA**, v. 18, n. 1, p. 95-104, 2000.

LIMA, J. A.; CATHARINO, R. R.; GODOY, H. T. Folic acid in enriched milk and milk beverages: shelf-life study. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 82-87, 2004.

LIU, K. S. **Soybeans**: Chemistry, technology, and utilization. Chapman and Hall, New York, 1997, p. 415–418.

LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 93, p. 47–56, 2005.

LOBO, A. R.; FILISETTI, T. M. C. C. Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri: Manole, 2007, p. 175-215.

LOBO, L.; SVEREIKA, A. Coalescence during emulsification 2. Role of small molecule surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 261, p. 498–507, 2003.

LOBO, L. Role of surfactants in emulsification: Coalescence vs. rupture. Abs **Papers American Chemical Society**, 219, p. 562, 2000.

LOGARAI, T. V. *et al.* Rheological behaviour of emulsions of avocado and watermelon oils during storage. **Food Chemistry**, v. 106, n. 3, p. 937-943, 2008.

LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Which juice is healthier? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. **Food Quality and Preference**. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>. Acesso em: 15 agosto 2006.

LUGASI, A. *et al.* Factors influencing lycopene content of foods, and lycopene of Hungarian population. **Nutrition Research**, v. 23, p. 1035-1044, 2003.

MACDOUGALL, A. J.; SELVENDRAN, R. R. Chemistry, architecture and composition of dietary fiber from cell walls. In: **Handbook of dietary fiber**. New York: Marcel Dekker Inc., p. 281-319, 2001.

MANICA, I. *et al.* **Fruticultura tropical: Goiaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000, p. 374.

MANZOCCO, L.; LAGAZIO, C. Coffee brew shelf life modelling by integration of acceptability and quality data. **Food Quality and Preference**, v. 20, p. 24-29, 2009.

MANZUR, A. *et al.* Inulin supplementation prevents high fructose diet-induced hypertension in rats. **Clinical Nutrition**, v. 27, p. 276-282, 2008.

MARINHO, C. S.; WANG, S. H.; CARVALHO, E. P. Produção de iogurte de soja com diferentes associações de bactérias lácticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 10, p. 1593-1601, 1994.

MARK-HERBERT, A. Innovation of a new product category — functional foods. **Technovation**, v. 24, p. 713–719, 2004.

MARTEAU, P.; SEKSIK, P. tolerance of probiotics and prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 38, p. 67-69, 2004.

MARTIN, M. L. G. M. *et al.* Measuring colour appearance of red wines. **Food Quality and Preference**, v. 18, n. 6, p. 862-871, 2007.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 102-105, 2003.

MCCLAIN, R. M.; BAUSCH, J. Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene. **Regulatory Toxicology Pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 274-285, 2003.

MCCLEMENTS, D. J. **Food emulsions; principles, practice, and techniques**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005.

MEILGAARD, D.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 3. ed. Boca Raton CRC Press, 1999.

MENDONÇA, S. N. T. G. *et al.* **Perfil microbiológico e físico-químico da bebida fermentada simbiótica à base de extrato solúvel de soja com soro de leite e WPC sabor goiaba**. In: IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Curitiba, Anais do IX ERSCTA, p. 298-302, 2007.

MENEZES, C. C. *et al.* **Avaliação da qualidade sensorial de doce de goiaba (*Psidium guajava*, L) em massa durante o armazenamento**. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte. Anais do XXI CBCTA, 2008, 3p.

MENGUAL, O. *et al.* Multiple Light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. **Talanta**, v. 50, p. 445–456, 1999.

MENRAD, K. Market and marketing of functional food in Europe. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 181-188, 2003.

MENZEL, C. M. Guava: an exotic fruit with potencial in Quessland. **Quessland Agricultural Journal**, v. 111, n. 2, p.93-98, 1985.

MERCADANTE, A. Z.; STECK, A.; PFANDER, H. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L): isolation and structure elucidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 145–151, 1999.

MEZADRI, T. *et al.* Índice de polifenóis totais e concentração de vitamina C em polpas de frutas produzidas em Santa Catarina, Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 163, p. 22-25, 2008.

MIEAN, K. H.; MOHAMED, S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3106–3112, 2001.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial**: estudo com consumidores. Viçosa: Ed. da UFV, 2006. 225 p.

MINIM, V. P. R. *et al.* Effects of coating on the acceptability of baby-carrots. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 591-596, 2008.

MIRHOSSEINI, H. *et al.* Optimization of the contents of arabic gum, xanthan gum and orange oil affecting turbidity, average particle size, polydispersity index and density in orange beverage emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 7, p. 1212-1223, 2008.

MISRA, K.; SESHADRI, T. R. Chemical components of the fruits of *Psidium guajava*. **Phytochemistry**, v. 7, p. 641–645, 1968.

MITTALL, K. L. Conceptual clarification of the terms used to describe emulsion behavior. **Journal of Cosmetology Chemistry**, v. 22, p. 815-817, 1971.

MONTEIRO C. L. B. **Técnicas de avaliação sensorial**. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA). 2. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1984.

MORAES, I. V. M. *et al.* Características físicas e químicas de morango processado minimamente e conservado sob refrigeração e atmosfera controlada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 274-281, 2008.

MOREIRA, E. A. M.; SHAMI, E. J. I. E. Licopeno como agente antioxidante. **Revisão em Nutrição**, v. 17, p. 227-236, 2004.

MORGANO, M. A.; QUEIROZ, S. C. N.; FERREIRA, M. M. C. Minerals determination in juices by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, p. 344-348, 1999.

MOURA, S. C. S. R. *et al.* Determinação da vida de prateleira de maçã-passa por testes acelerados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 141-148, 2007.

MURAKAMI, H. *et al.* Antioxidative stability of tempeh and liberation of isoflavones by fermentation, **Agriculture Biology and Chemistry**, v. 48, p. 2971–2975, 1984.

MURAKAWA, F. E. São Paulo joga lixo 30 mil toneladas de goiaba. **Folha de São Paulo**, Caderno Agrofolha, p. 5-6, 1998.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. **Response surface methodology**: Process and product optimization using designed experiments. 2. ed. New York: Wiley, 2002.

NATH, A.; CHATTOPADHYAY, P. K. Optimization of oven toasting for improving crispness and other quality attributes of ready to eat potato-soy snack using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 1282–1292, 2007.

NAVES, M. M. V. Betacarotene and e cancer. **Review of Nutrition**, v. 11, n. 2, p. 99-115, 1998.

NETTO, F. Determinação da vida de prateleira - Erros e limitações. **Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados**. Manual técnico, n. 6, 3. ed., p. 59-62, 2004.

NICOLI, M. C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. **Trends Food Science and Technology**, v. 10, p. 94-100, 1999.

NIKAEDO, P. H. L.; AMARAL, F. F.; PENNA, A. L. B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado protéico de soro e misturas de gomas carragena e guar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 397-404, 2004.

NINESS, K. Breakfast foods and the health benefits of inulin and oligofructose. **Cereal Foods World**, v. 44, n. 2, p. 79–81, 1999.

NUNES, L. I.; MERCADANTE, A. Z. Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 440-447, 2004.

NUNES, M. C. *et al.* Avaliação das sobremesas lácteas: características que podem comprometer a garantia da qualidade. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 41-48, 1998.

NUSSINOVITCH, A. **Hydrocolloids applications**: Gum technology in the food and other industries. London: Blackie Academic and Professional, 1997, p. 156–158.

NUTRITION BUSINESS JOURNAL. **Functional foods report**. Penton Media, 2002.

OLIVARES, M. *et al.* Anaemia and iron deficiency disease in children. **Brazilian Medical Bulletin**, v. 55, p. 534–543, 1999.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. v. 1. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PADULA, M. Influência da embalagem na vida de prateleira de alimentos. **Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados**. Manual técnico, n. 6, 3. ed., 2004, p. 59-62.

PALAZOLO, G. G.; SORGENTINI, D. A.; WAGNER, J. R. Coalescence and Flocculation in o/w emulsions of native and denatured whey soy proteins in comparison with soy protein isolates. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 595–604, 2005.

PALAZÓN, M. A. *et al.* Determination of shelf-life of homogenized apple-based beikost storage at different temperatures using Weibull hazard model. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 319-326, 2009.

PARASKEVOPOULOU, A. *et al.* Influence of polysaccharide addition on stability of a cheese whey kefir-milk mixture. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 5, p. 615–620, 2003.

PELTO, L. *et al.* No difference in symptoms and receptor expression in lactose-intolerant and in milkhypersensitive subjects following intake of homogenized and unhomogenized milk. **International Dairy Journal**, v. 10, p. 799-803, 2000.

PHAM, Q. T. Modeling thermal process: cooling and freezing. In: TIJSKENS, L. M. M.; HERTOOG, M. L. A. T. A.; NICOLAI, B. M. (Eds.), **Food process modeling**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2001, p. 312-339.

PINHEIRO, A. S. **Síntese de oligossacarídeos por inulinase de *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus***. 199 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

PINTO, E. P. *et al.* Sucralose no desenvolvimento de sobremesas lácteas *light*. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 49-60, 2003.

POPPER, R. *et al.* The effect of attribute questions on overall liking ratings. **Food Quality and Preference**, v. 15, n. 7, p. 853–858, 2004.

POTTER, R. M. *et al.* Characteristics of wild blueberry–soy beverages. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 5, p. 807-814, 2007.

PROSKY, L. What is diet fiber? New look at the definition. In: MCCLEARY, B. V. PROSKY, L. **Advanced dietary fiber technology**. London: Blackwell science, 2001, p. 63-76.

PSZCZOLA, D. E. Fibre ingredient may find a good start in breakfast foods. **Food Technology**, v. 53, n. 3, p. 62–63, 1999.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. *et al.* Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, p. 3-11, 2002.

PYKE, M. **Success in nutrition**. London: John Murray publishers, 1975, p.15-169.

QING, S. *et al.* Carotenoids: Separation Methods Applicable to Biological Samples. **Journal of Chromatography B**, v. 781, p. 393-418, 2002.

QUANHONG, L.; CAILI, F. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. **Food Chemistry**, v. 92, p. 701–706, 2005.

RAH, J. H. *et al.* Applying the theory of planned behavior to women's behavioral attitudes on and consumption of soy products. **Journal of Nutrition Education and Behavior**, v. 36, n. 5, p. 238–244, 2004.

RAO, A. V.; AGARWAL, S. Role of oxidant lycopene in cancer and heart disease. **Journal of American College of Nutrition**, v. 19, n. 5, p. 563-9, 2000.

RAO, A. V.; SHEN, H. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. **Nutrition Research**, v. 22, p.125-131, 2002.

RAO, A.; SUNG, M. K. Saponins as anticarcinogens. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 717-724, 1995.

RAVIKUMAR, K. *et al.* Application of response surface methodology to optimize the process variables for reactive red and acid brown dye removal using a novel adsorbent. **Dyes and Pigments**, v. 70, p. 18-26, 2006.

REDDY, B. S.; HAMID, R.; RAO, C. V. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. **Carcinogenesis**, v. 18, p. 1371-1374, 1997.

REDMON, G. L. **Minerals**: What your body really needs and why, Avery publishing group: Garden city park, 1999, p. 17.

REID, G. Probiotics and prebiotics – Progress and challenges. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 10-11, p. 969-975, 2008.

REMEUF, F. *et al.* Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 773–782, 2003.

RENUKA, B.; KULKARNI, P.; PRAPULLA, S. G. Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. **Food Science and Technology**, In Press, Accepted Manuscript, Available online 27 November 2008.

RESEARCH AND MARKETS. **Functional foods market assessment 2007**. Disponível em: www.researchandmarkets.com/reports/. Acesso em: 27 junho 2008.

RICHARDSON-HARMAN, N. J. *et al.* Mapping consumer perceptions of creaminess and liking for liquid dairy products. **Food Quality Preference**, v. 11, p. 239-246, 2000.

RIZZO, V.; MURATORE, G. Effects of packaging on shelf life of fresh celery. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 124–128, 2009.

ROBERFROID, M. B. Concept in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1398-1401, 1999.

ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. **American Journal for Clinical Nutrition**, v. 71, n. 6, p. 1660-1664, 2000.

ROBERFROID, M. B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestion Liver Disease**, v. 34, n. 1, p. 198-203, 2002.

ROBERFROID, M. B. **Inulin-type fructans**: Functional food ingredients. Routledge: United States of America, 2005, 359 p.

ROCHA, E. M. *et al.* Elaboration and characterization of tropical fruit-based dairy desserts. **Higiêne Alimentar**, v. 19, n. 129, p. 12-14, 2005.

RODRIGUES, R. S. **Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando a formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêsegos**. 200 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Critical review of provitamin A determination in plant foods. **Journal Micronutritional Analysis**, v. 5, p. 191-225, 1989.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Latin American food sources of carotenoids. **Arch Latinoamerican Nutrition**, v. 49, n. 3, p. 74-84, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoides y preparación de alimentos**: La retencion de los carotenoides provitamina A em alimentos preparados, procesados y almacenados. OMNI: USA, 1999, p. 99.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A. **Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. International Life Sciences Institute. Washington: One Thomas Circle, 2001, p. 64.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A.; AMAYA-FARFAN, J.; KIMURA, M. Carotenoid composition of Brazilian fruits and vegetables. **Acta Horticulturae**, v. 744, p. 409-416, 2007.

RODRÍGUEZ, M. B. S.; MEGÍAS, S. M.; BAENA, B. M. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Revista da Espanha de Salud Pública**, v. 77, n. 3, p. 317-331, 2003.

ROEDIGER, W. E. M. The utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. **Gastroenterology**, v. 83, p. 424-429, 1989.

ROMERO, A. *et al.* Rheology and droplet size distribution of emulsions stabilized by crayfish flour. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 6, p. 1033-1043, 2008.

SAAD, S. M. I. *et al.* Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 386-393, 2006.

SAAD, S. M. I. *et al.* Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 669-675, 2007.

SANDERS, M. E. Summary of the conclusions from a consensus panel of experts on health attributes on lactic cultures: significance to fluid milk products containing cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1819-1828, 1993.

SANTOS, G. L. P. *et al.* **Avaliação físico-química de sobremesa infantil formulada com banana e capim-cidreira**. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte. Anais do XXI CBCTA, 2008, 3 p.

SARTOR, R. B. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel disease: antibiotics, probiotics and prebiotics. **Gastroenterology**, v. 126, p. 1620-1633, 2004.

SCSPR. Secretaria De Comunicação Social Da Presidência Da República. **Alimentação mais saudável para os brasileiros**. Disponível em: http://www.brasil.gov.br/noticias/em_questao/.questao/eq584a/. Acesso em 21 dez. 2007.

SCHAAFSMA, G. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 458-465, 2008.

SCHIFFMAN, L. G.; KANUK, L. L. **Consumer behavior**. New Jersey: Prentice Hall Inc., 2000, p. 608.

SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism – experimental data and mechanism. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 179-186, 2002.

SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics- an approaching definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 361-364, 2001.

SHAH, N. P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**. v. 55, n. 11, p. 46-53, 2001.

SHAMI, N. J. I.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Review of Nutrition**, v. 17, n. 2, p. 227-36, 2004.

SHIMAKAWA, Y. *et al.* Evaluation of *Bifidobacterium breves* strain Yakult-fermented soymilk as a probiotic food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 81, n. 2, p. 131-136, 2003.

SIEGRIST, M.; STAMPFLI, N.; KASTENHOLZ, H. Consumers' willingness to buy functional foods. The influence of carrier, benefit and trust. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 526-529, 2008.

SIN, H. N. *et al.* Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 73, p. 313–319, 2006.

SIRÓ, I. *et al.* Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456-467, 2008.

SLOAN, E. A. What consumers want - and what don't want on food and beverage labels. **Food Technology**, v. 57, n. 11, p. 26-36, 2003.

SOLER, L. **Development of non-dairy frozen emulsion containing soy protein and coconut milk**. 84 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos): Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Department of Food Science, Louisiana, 2005.

SOUZA, T., L., A.; MIRANDA, C., F. **Desenvolvimento da mousse de milho verde diet com ingredientes funcionais**. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte. Anais do XXI CBCTA, 2008, 3p.

STANTON, A. *et al.* Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current Opinions in Biotechnology**, v. 16, p. 198–203, 2005.

SURH, J.; JEONG, Y. G.; VLADISAVLJEVIC, T. On the preparation of lecithin-stabilized oil-in-water emulsions by multi-stage premix membrane emulsification. **Journal of Food Engineering**, v. 89, n. 2, p. 164-170, 2008.

TACO. Tabela Brasileira De Composição De Alimentos. 2 ed. Study and Research Center of Food. University of Campinas, Campinas. Disponível em: www.unicamp.br/nepa/taco/. Acesso em 17 outubro 2008.

TAMURA, A. *et al.* Low activities of intestinal lactase suppress the early phase absorption of soy isoflavones in Japanese adults. **Clinical Nutrition**, v. 27, p. 248-253, 2008.

TARREGA, A.; COSTELL, E. Color and consistency of semi-solid dairy desserts: Instrumental and sensory measurements. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 655-661, 2007.

TEIXEIRA NETO, R. O.; MOURA, S. C. S. R. Reações de transformação em alimentos: Influência da temperatura. **Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados**. Manual técnico, n. 6, 3. ed., p. 1-16, 2004.

TÉO, C. R. P. A. Lactose intolerance: a brief review for the nutritional care. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 6, n. 3, p. 135-140, 2002.

THAIPONG, K. *et al.* Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 669–675, 2006.

THANANUNKUL, M. *et al.* Degradation of raffinose and stachyose in soybean milk by β -galactosidase from *Mortierella vinacea*. Entrapment of β -galactosidase within polyacrylamide gel. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 173–175, 1976.

THE, Y. H.; DOUGHERTY, M. P.; CAMIRE, M. E. Frozen blueberry-soy emulsion quality. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 2, p. 119-122, 2005.

TIWARI, B. K. *et al.* Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1119-1126, 2009.

TSIRONI, T. *et al.* Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 664-671, 2009

TUORILA, H.; CARDELLO, A. V. Consumer responses to an off-flavour in juice in the presence of specific health claims, **Food Quality and Preference**, v.13, p. 561–569, 2002.

UMBELINO, D. C.; CARDELLO, H. M.; ROSSI, E. A. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do "iogurte" de soja. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 51, n. 2, p. 199-203, 2001.

UNITED SOYBEAN BOARD. **Consumer attitudes about nutrition**, USB, Chesterfield, MO 2005.

USDA. United States Department of Agriculture. **Nutritive Value of Foods, Home and Garden Bulletin 72 (HG-72)**. Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory, Beltsville, Maryland, USA. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/HG72/hg72.html>. Acesso em: 27 fevereiro 2008.

VAN AKEN, G. A.; BLIJDENSTEIN, T. B. J.; HOTRUM, N.E. Colloidal destabilization mechanisms in protein-stabilised emulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 8, 2003, p. 371-379.

VERBEKE, W. Consumer acceptance of functional foods: Socio-demographic cognitive and attitudinal determinants. **Food Quality and Preference**, v. 16, n. 1, p. 45–57, 2005.

VERRUMA, M. R.; SALGADO, J. M. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 1, p.131-137, 1994.

VIEIRA, A. O. *et al.* **Análise da aceitação da sobremesa “láctea” de soja orgânica**. In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belo Horizonte. Anais do XXI CBCTA, 2008, 3p.

VITALI, A. A.; QUAST, D. G. Vida de prateleira de alimentos. In: MOURA, S. C. S. R, GERMER, S. P. M. **Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados**. 3. ed. Campinas: ITAL, 2004, p. 49-57.

XIONG, Y. L. Structure-function relationships of muscle proteins. In: DAMODARAN, S.; PARAF, A. (Eds.). **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker Inc, 1997, p. 341–392.

ZIEGLER, R. G. *et al.* Importance of alpha-carotene e beta-carotene, and other phytochemicals in the etiology of lung cancer. **Journal of Natural Cancer Institute**, v. 88, n. 9, p. 612-615, 1996.

WALKER, J. A. **Development of low-fat sugar-free orange sherbet containing soy protein**. 214 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Department of Food Science, Louisiana, 2002.

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1666-1673, 1994.

WANG X. D.; RUSSELL R. M. Procarcinogenic and anticarcinogenic effects of beta-carotene. **Nutrition Review**, v. 18, n. 9, p. 263-272, 1999.

WANG, J.; MAZZA, G. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 50, p. 4183-4189, 2002.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 701–705, 1996.

WANG, Y. C.; YU, R. C.; SHOU. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, v. 23, p. 128–135, 2006.

WANG, L. *et al.* Optimisation of supercritical fluid extraction of flavonoids from *Pueraria lobata*. **Food Chemistry**, v. 108, p. 737-741, 2008.

WHITE, D. A. *et al.* Sunflower-seed oil body emulsions: Rheology and stability assessment of a natural emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1224-1232, 2008.

WHO. World Health Organization. **Global database on anemia and iron deficiency**. Disponível em: <http://www.who.int/nut/db-mdis>. Acesso em 21 setembro 2001.

WHO. World Health Organization. **Iron deficiency anaemia**: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. 2001. World Health Organization, Geneva (2001) (Document WHO/NHD/01.3).

WILLIAMS A. W. *et al.* Beta-carotene modulates human prostate cancer cell growth and may undergo intracellular metabolism to retinol. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 728-732, 2000.

YACKINOUS, C.; WEE, C.; GUINARD, J. X. Internal preference mapping of hedonic ratings for Ranch salad dressings varying in fat and garlic flavour. **Food Quality and Preference**, v. 10, p. 401-409, 1999.

YAN, L. Y.; TENG, L. T.; JHI, T. J. Antioxidant properties of guava fruit: comparison with some local fruits. **Sunway Academic Journal**, v. 3, p. 9-20, 2006.

YAPING, Z. *et al.* Anti-inflammatory and anticoagulant activities of lycopene in mice. **Nutrition Research**, v. 23, n. 11, p. 1591-1595, 2003.

YE, A. Interfacial composition and stability of emulsions made with mixtures of commercial sodium caseinate and whey protein concentrate. **Food Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 946-952, 2008.

YI, C. *et al.* Effects of supercritical fluid extraction parameters on lycopene yield and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1088-1094, 2009.

YOON, K.Y.; WOODAMS E. E.; HANG Y. D. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. **Journal of Microbiology**, v. 42, p. 315–318, 2004.

YUN, J. W. Fructooligosaccharides - Occurrence, preparations, and application. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, p. 107-117, 1996.

YUYAMA, L. K. O. *et al.* Vitamina A (Retinol) e Carotenóides. In: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri: Manole, 2007, p. 219-261.